

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	チーコード (参考)
A 61 K 47/48		A 61 K 47/48	4 B 01 8
A 23 L 1/30		A 23 L 1/30	Z 4 C 0 7 6
A 61 K 9/08		A 61 K 9/08	4 C 0 8 6
9/107		9/107	
9/14		9/14	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 73 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号 特願2001-523037(P2001-523037)
 (86) (22) 出願日 平成12年9月7日 (2000.9.7)
 (85) 翻訳文提出日 平成14年3月13日 (2002.3.13)
 (86) 国際出願番号 PCT/US 00/24520
 (87) 国際公開番号 WO 01/019406
 (87) 国際公開日 平成13年3月22日 (2001.3.22)
 (31) 優先権主張番号 60/153, 649
 (32) 優先日 平成11年9月13日 (1999.9.13)
 (33) 優先権主張国 米国 (U S)
 (31) 優先権主張番号 09/474, 915
 (32) 優先日 平成11年12月31日 (1999.12.31)
 (33) 優先権主張国 米国 (U S)

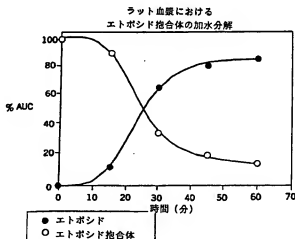
(71) 出願人 ノベックス・コーポレーション
 アメリカ合衆国ノースカロライナ州27709
 -3940, リサーチ・トライアングル・パーク,
 ポスト・オフィス・ボックス 13940
 (72) 発明者 エクウリベ, ヌノキリ・エヌ
 アメリカ合衆国ノースカロライナ州27511,
 ケアリー, コルツゲイト・ドライヴ 216
 (72) 発明者 ジャコフ, タチアナ・エイ
 アメリカ合衆国ノースカロライナ州27655,
 グリーンスボロ, グレン・メドウ・ドライ
 ヴ 2508
 (74) 代理人 弁理士 奥山 尚一 (外2名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 両親媒性プロドラッグ

(57) 【要約】

本発明は、PEGオリゴマー／ポリマーに結合された治療化合物を含む両親媒性プロドラッグを提出し、かつ経口薬物送達を可能にしおよび／または中枢神経系へ血液脳関門を通過して薬物送達を可能にする前記プロドラッグの使用法を提供する。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 (a) 少なくとも1つの治療化合物と、

(b) それぞれ加水分解性結合によって前記治療化合物の結合部位に連結する1つまたは複数のPEGポリマーおよび／またはオリゴマーとを含み、前記PEGポリマーおよび／またはオリゴマーは、それぞれ

(i) 2～25個のポリエチレングリコール単位からなる直鎖または分岐PEGセグメントを含み、

(ii) 任意選択的に塩形成部分を含む、プロドラッグ。

【請求項2】 前記1つまたは複数のPEGポリマーおよび／またはオリゴマーがそれぞれ本質的に2～20個のポリエチレングリコール単位からなる、請求項1に記載のプロドラッグ。

【請求項3】 前記1つまたは複数のPEGポリマーおよび／またはオリゴマーがそれぞれ本質的に2～15個のポリエチレングリコール単位からなる、請求項1に記載のプロドラッグ。

【請求項4】 前記1つまたは複数のPEGポリマーおよび／またはオリゴマーがそれぞれ本質的に2～10個のポリエチレングリコール単位からなる、請求項1に記載のプロドラッグ。

【請求項5】 前記ポリエチレングリコールオリゴマーが1、2、3、4、5、6、7、8、および9個からなる群から選択される多数のポリエチレングリコール単位を有する、請求項1に記載のプロドラッグ。

【請求項6】 前記1つまたは複数のPEGポリマーおよび／またはオリゴマーの少なくとも1つが塩形成部分を含む、請求項1に記載のプロドラッグ。

【請求項7】 前記塩形成部分が、アンモニウム、水素、ナトリウム、カリウム、リチウム、カルシウム、カルボン酸塩、塩化物、臭化物、ヨウ化物、リン酸塩、硫酸塩、およびメシレートからなる群から選択される、請求項6に記載のプロドラッグ。

【請求項8】 前記治療化合物がエトポシドを含む、請求項1に記載のプロドラッグ。

【請求項9】 前記治療化合物がエトポシドの治療活性のいくらかまたは全

てを保持しているエトポシド類似体を含む、請求項1に記載のプロドラッグ。

【請求項10】 前記治療化合物が1、2、3、または4個のポリエチレングリコールオリゴマーにより誘導される、請求項1に記載のプロドラッグ。

【請求項11】 経口投与経路を介して送達された場合、血液中に治療有効量の治療化合物が得られる、請求項1に記載のプロドラッグ。

【請求項12】 (a) 請求項1に記載のプロドラッグと、

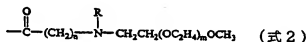
(b) 薬学的に受容可能なキャリアとを含む、薬学的組成物。

【請求項13】 経口投与に適切な形態の、請求項12に記載の薬学的組成物。

【請求項14】 錠剤、カプセル、カプレット、ゲルキャップ、丸薬、液体の溶液、懸濁液、またはエリキシル、粉末、菓子錠剤、微粉末状粒子、および浸透圧送達系からなる群から選択される形態の、請求項12に記載の薬学的組成物。

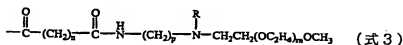
【請求項15】

【化1】



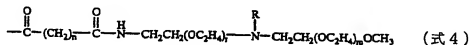
(式中、nは1～7であり、mは2～25であり、Rは低級アルキルである)、

【化2】



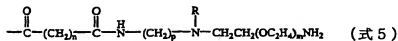
(式中、nは1～6であり、pは2～8であり、mは2～25であり、Rは低級アルキルである)、

【化3】



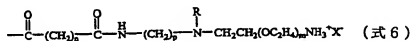
(式中、nは1～6であり、mおよびrはそれぞれ独立して2～25であり、Rは低級アルキルである)、

【化4】



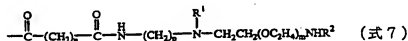
(式中、nは1～6であり、pは2～8であり、mは2～25であり、Rは低級アルキルである)、

【化5】



(式中、nは1～6であり、pは2～8であり、mは2～25であり、X⁻は陰イオンである)、

【化6】



(式中、nは1～6であり、pは2～8であり、mは2～25であり、R¹およびR²はそれぞれ独立して低級アルキルである)、

【化7】



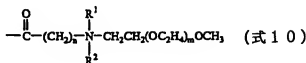
(式中、nは1～6であり、pは2～8であり、mは2～25である)、

【化8】



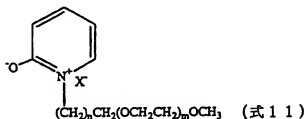
(式中、n および p はそれぞれ独立して 1～6 であり、m は 2～25 であり、X⁺ は陽イオンである)、

【化9】



(式中、n は 1～5 であり、m は 2～25 であり、R¹ および R² はそれぞれ独立して低級アルキルである)、

【化10】



(式中、n は 1～6 であり、m は 2～25 であり、X⁻ は陰イオンである) からなる群から選択される 1 つまたは複数の PEG オリゴマーに、加水分解性結合によって連結された治療化合物を含むプロドラッグ。

【請求項 16】 前記 1 つまたは複数のポリエチレングリコールオリゴマーが塩形成部分を含む、請求項 15 に記載のプロドラッグ。

【請求項 17】 前記塩形成部分が、アンモニウム、水素、ナトリウム、カリウム、リチウム、カルシウム、カルボン酸塩、塩化物、臭化物、ヨウ化物、リン酸塩、硫酸塩、およびメシレートからなる群から選択される、請求項 16 に記載のプロドラッグ。

【請求項 18】 前記治療化合物がエトポシドを含む、請求項 15 に記載のプロドラッグ。

【請求項 19】 前記治療化合物がエトポシドの治療活性のいくらかまたは全てを保持しているエトポシド類似体を含む、請求項 15 に記載のプロドラッグ。

【請求項20】 前記治療化合物が1、2、3、または4個のポリエチレングリコールオリゴマーにより誘導される、請求項15に記載のプロドラッグ。

【請求項21】 (a) 請求項15に記載のプロドラッグと、
(b) 薬学的に受容可能なキャリアを含む、薬学的組成物。

【請求項22】 経口投与に適切な形態の、請求項21に記載の薬学的組成物。

【請求項23】 錠剤、カプセル、カプレット、ゲルキャップ、丸薬、液体の溶液、懸濁液、またはエリキシル、粉末、菓子錠剤、微粉末状粒子、および浸透圧送達系からなる群から選択される、請求項21に記載の薬学的組成物。

【請求項24】 前記治療化合物が、式：

【化11】



(式中、nは1～7であり、mは2～25であり、Rは低級アルキルである)を有する1つまたは複数のPEGオリゴマーに加水分解性結合で連結した、請求項15に記載のプロドラッグ。

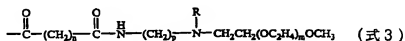
【請求項25】 前記治療化合物がエトポシドを含む、請求項24に記載のプロドラッグ。

【請求項26】 前記治療化合物がエトポシドの治療活性のいくらかまたは全てを保持しているエトポシド類似体を含む、請求項24に記載のプロドラッグ。

【請求項27】 前記治療化合物が1、2、3、または4個のポリエチレングリコールオリゴマーにより誘導される、請求項24に記載のプロドラッグ。

【請求項28】 前記治療化合物が、式：

【化12】



(式中、nは1～6であり、pは2～8であり、mは2～25であり、Rは低級アルキルである)を有する1つまたは複数のPEGオリゴマーに加水分解性結合で連結した、請求項15に記載のプロドラッグ。

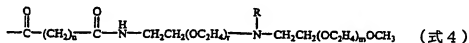
【請求項29】 前記治療化合物がエトポシドを含む、請求項28に記載のプロドラッグ。

【請求項30】 前記治療化合物がエトポシドの治療活性のいくらかまたは全てを保持しているエトポシド類似体を含む、請求項28に記載のプロドラッグ。

【請求項31】 前記治療化合物が1、2、3、または4個のポリエチレングリコールオリゴマーにより誘導される、請求項28に記載のプロドラッグ。

【請求項32】 前記治療化合物が、式：

【化13】



(式中、nは1～6であり、mおよびrはそれぞれ独立して2～25であり、Rは低級アルキルである)を有する1つまたは複数のPEGオリゴマーに加水分解性結合で連結した、請求項15に記載のプロドラッグ。

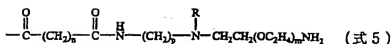
【請求項33】 前記治療化合物がエトポシドを含む、請求項32に記載のプロドラッグ。

【請求項34】 前記治療化合物がエトポシドの治療活性のいくらかまたは全てを保持しているエトポシド類似体を含む、請求項32に記載のプロドラッグ。

【請求項35】 前記治療化合物が1、2、3、または4個のポリエチレングリコールオリゴマーにより誘導される、請求項32に記載のプロドラッグ。

【請求項36】 前記治療化合物が、式：

【化14】



(式中、nは1～6であり、pは2～8であり、mは2～25であり、Rは低級アルキルである)を有する1つまたは複数のPEGオリゴマーに加水分解性結合で連結した、請求項15に記載のプロドラッグ。

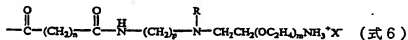
【請求項37】 前記治療化合物がエトポシドを含む、請求項36に記載のプロドラッグ。

【請求項38】 前記治療化合物がエトポシドの治療活性のいくらかまたは全てを保持しているエトポシド類似体を含む、請求項36に記載のプロドラッグ。

【請求項39】 前記治療化合物が1、2、3、または4個のポリエチレングリコールオリゴマーにより誘導される、請求項36に記載のプロドラッグ。

【請求項40】 前記治療化合物が、式：

【化15】



(式中、nは1～6であり、pは2～8であり、mは2～25であり、X⁻は陰イオンである)を有する1つまたは複数のPEGオリゴマーに加水分解性結合で連結した、請求項15に記載のプロドラッグ。

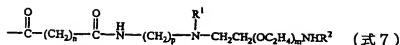
【請求項41】 前記治療化合物がエトポシドを含む、請求項40に記載のプロドラッグ。

【請求項42】 前記治療化合物がエトポシドの治療活性のいくらかまたは全てを保持しているエトポシド類似体を含む、請求項40に記載のプロドラッグ。

【請求項43】 前記治療化合物が1、2、3、または4個のポリエチレングリコールオリゴマーにより誘導される、請求項40に記載のプロドラッグ。

【請求項44】 前記治療化合物が、式：

【化16】



(式中、nは1～6であり、pは2～8であり、mは2～25であり、R¹およびR²はそれぞれ独立して低級アルキルである)を有する1つまたは複数のPEGオリゴマーに加水分解性結合で連結した、請求項15に記載のプロドラッグ。

【請求項45】 前記治療化合物がエトポシドを含む、請求項44に記載のプロドラッグ。

【請求項46】 前記治療化合物がエトポシドの治療活性のいくらかまたは全てを保持しているエトポシド類似体を含む、請求項44に記載のプロドラッグ。

【請求項47】 前記治療化合物が1、2、3、または4個のポリエチレングリコールオリゴマーにより誘導される、請求項44に記載のプロドラッグ。

【請求項48】 前記治療化合物が、式：

【化17】



(式中、nは1～6であり、pは2～8であり、mは2～25である)を有する1つまたは複数のPEGオリゴマーに加水分解性結合で連結した、請求項15に記載のプロドラッグ。

【請求項49】 前記治療化合物がエトポシドを含む、請求項48に記載のプロドラッグ。

【請求項50】 前記治療化合物がエトポシドの治療活性のいくらかまたは全てを保持しているエトポシド類似体を含む、請求項48に記載のプロドラッグ。

【請求項51】 前記治療化合物が1、2、3、または4個のPEGオリゴマーにより誘導される、請求項48に記載のプロドラッグ。

【請求項52】 前記治療化合物が、式：

【化18】



(式中、nおよびpはそれぞれ独立して1～6であり、mは2～25であり、X⁺は陽イオンである)を有する1つまたは複数のPEGオリゴマーに加水分解性結合で連結した、請求項15に記載のプロドラッグ。

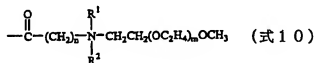
【請求項53】 前記治療化合物がエトポシドを含む、請求項52に記載のプロドラッグ。

【請求項54】 前記治療化合物がエトポシドの治療活性のいくらかまたは全てを保持しているエトポシド類似体を含む、請求項52に記載のプロドラッグ。

【請求項55】 前記治療化合物が1、2、3、または4個のPEGオリゴマーにより誘導される、請求項52に記載のプロドラッグ。

【請求項56】 前記治療化合物が、式：

【化19】



(式中、nは1～5であり、mは2～25であり、R¹およびR²はそれぞれ独立して低級アルキルである)を有する1つまたは複数のPEGオリゴマーに加水分解性結合で連結した、請求項15に記載のプロドラッグ。

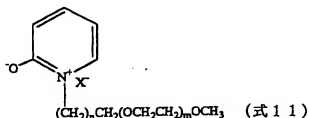
【請求項57】 前記治療化合物がエトポシドを含む、請求項56に記載のプロドラッグ。

【請求項58】 前記治療化合物がエトポシドの治療活性のいくらかまたは全てを保持しているエトポシド類似体を含む、請求項56に記載のプロドラッグ。

【請求項59】 前記治療化合物が1、2、3、または4個のPEGオリゴマーにより誘導される、請求項56に記載のプロドラッグ。

【請求項60】 前記治療化合物が、式：

【化20】



(式中、nは1～6であり、mは2～25であり、X⁻は陰イオンである)を有する1つまたは複数のPEGオリゴマーに加水分解性結合で連結した、請求項15に記載のプロドラッグ。

【請求項61】 前記治療化合物がエトポシドを含む、請求項60に記載のプロドラッグ。

【請求項62】 前記治療化合物がエトポシドの治療活性のいくらかまたは全てを保持しているエトポシド類似体を含む、請求項60に記載のプロドラッグ。

【請求項63】 前記治療化合物が1、2、3、または4個のPEGオリゴマーにより誘導される、請求項60に記載のプロドラッグ。

【請求項64】 治療化合物に反応性を示す病態を有する哺乳動物被験体の治療法であって、前記方法は、

- (a) 少なくとも1つの治療化合物と、
- (b) それぞれ加水分解性結合によって治療化合物の結合部位に連結する1つまたは複数のPEGポリマーおよび／またはオリゴマーを含み、前記PEGポリマーおよび／またはオリゴマーは、それぞれ
 - (i) 2～25個のポリエチレングリコール単位からなる直鎖または分岐PEGセグメントを含み、
 - (ii) 任意選択的に塩形成部分を含むプロドラッグを疾患治療有効量で前記被験体に投与することを包含する、方法。

【請求項65】 前記1つまたは複数のPEGポリマーおよび／またはオリゴマーがそれぞれ本質的に2～20個のPEGオリゴマー単位からなる、請求項64に記載の方法。

【請求項66】 前記1つまたは複数のPEGポリマーおよび／またはオリゴマーがそれぞれ本質的に2～15個のPEGオリゴマー単位からなる、請求項64に記載の方法。

【請求項67】 前記1つまたは複数のPEGポリマーおよび／またはオリゴマーがそれぞれ本質的に2～10個のPEGオリゴマー単位からなる、請求項64に記載の方法。

【請求項68】 前記PEGオリゴマーが1、2、3、4、5、6、7、8、および9個からなる群から選択される多数のPEGオリゴマー単位を有する、請求項64に記載の方法。

【請求項69】 前記1つまたは複数のPEGポリマーおよび／またはオリゴマーの少なくとも1つが塩形成部分を含む、請求項64に記載の方法。

【請求項70】 前記塩形成部分が、アンモニウム、水素、ナトリウム、カリウム、リチウム、カルシウム、カルボン酸塩、塩化物、臭化物、ヨウ化物、リン酸塩、硫酸塩、およびメシレートからなる群から選択される、請求項69に記載の方法。

【請求項71】 前記治療化合物がエトポシドを含む、請求項64に記載の方法。

【請求項72】 前記治療化合物がエトポシドの治療活性のいくらかまたは全てを保持しているエトポシド類似体を含む、請求項64に記載の方法。

【請求項73】 前記治療化合物が1、2、3、または4個のPEGオリゴマーにより誘導される、請求項64に記載の方法。

【請求項74】 前記プロドラッグを、経口投与経路を含む投与経路で投与する、請求項64に記載の方法。

【請求項75】 前記プロドラッグを、非経口投与経路を含む投与経路で投与する、請求項64に記載の方法。

【請求項76】 前記プロドラッグを、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮

下、骨内、および鼻腔内からなる群から選択される経路を含む投与経路で患者に投与する、請求項64に記載の方法。

【請求項77】 前記病態は、癌、腫瘍、悪性腫瘍からなる群から選択される、請求項64に記載の方法。

【請求項78】 前記病態は癌を含む、請求項64に記載の方法。

【請求項79】 前記病態は、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、精巣癌、リンパ腫、白血病、卵巣癌、および胃癌からなる群から選択される病態を含む、請求項64に記載の方法。

【請求項80】 前記プロドラッグを、

(a) プロドラッグと、

(b) 薬学的に受容可能なキャリアと

を含む薬学的組成物の成分として投与する、請求項64に記載の方法。

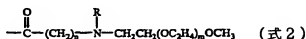
【請求項81】 前記薬学的組成物が経口投与に適切な形態である、請求項80に記載の方法。

【請求項82】 前記薬学的組成物が非経口投与に適切な形態である、請求項80に記載の方法。

【請求項83】 前記薬学的組成物が、錠剤、カプセル、カプレット、ゲルキャップ、丸薬、液体の溶液、懸濁液、またはエリキシル、粉末、菓子錠剤、微粉末状粒子、および浸透圧送達系からなる群から選択される形態である、請求項80に記載の方法。

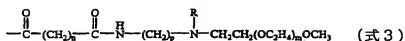
【請求項84】 治療化合物に反応性を示す病態の哺乳動物被験体の治療法であって、前記方法は、

【化21】



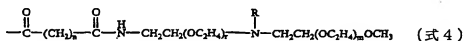
(式中、nは1～7であり、mは2～25であり、Rは低級アルキルである)、

【化22】



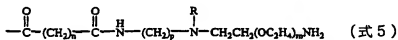
(式中、nは1～6であり、pは2～8であり、mは2～25であり、Rは低級アルキルである)、

【化23】



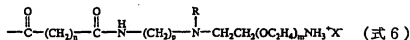
(式中、nは1～6であり、mおよびrはそれぞれ独立して2～25であり、Rは低級アルキルである)、

【化24】



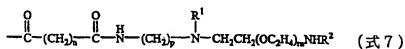
(式中、nは1～6であり、pは2～8であり、mは2～25であり、Rは低級アルキルである)、

【化25】



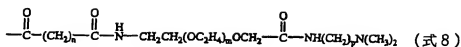
(式中、nは1～6であり、pは2～8であり、mは2～25であり、X⁻は陰イオンである)、

【化26】



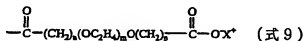
(式中、nは1～6であり、pは2～8であり、mは2～25であり、R¹およびR²はそれぞれ独立して低級アルキルである)、

【化27】



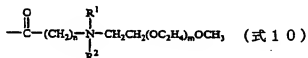
(式中、nは1～6であり、pは2～8であり、mは2～25である)、

【化28】



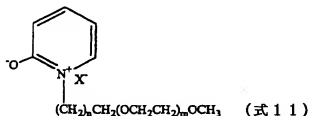
(式中、nおよびpはそれぞれ独立して1～6であり、mは2～25であり、X⁺は陽イオンである)、

【化29】



(式中、nは1～5であり、mは2～25であり、R¹およびR²はそれぞれ独立して低級アルキルである)、

【化30】



(式中、nは1～6であり、mは2～25であり、X⁻は陰イオンである)
 からなる群から選択される1つまたは複数のPEGオリゴマーに加水分解性結合
 によって連結した治療化合物を含むプロドラッグを疾患治療有効量で前記被験体
 に投与することを包含する、方法。

【請求項85】 前記1つまたは複数のPEGオリゴマーがそれぞれ2～8

個のPEG単位を有する、請求項84に記載の方法。

【請求項86】 前記1つまたは複数のPEGオリゴマーがそれぞれ2～6個のPEGオリゴマー単位を有する、請求項84に記載の方法。

【請求項87】 前記1つまたは複数のPEGオリゴマーがそれぞれ2、3、4、または5個のPEGオリゴマー単位を有する、請求項84に記載の方法。

【請求項88】 前記1つまたは複数のPEGオリゴマーが塩形成部分を含む、請求項84に記載の方法。

【請求項89】 前記PEGオリゴマーがアンモニウム、水素、ナトリウム、カリウム、リチウム、カルシウム、カルボン酸塩、塩化物、臭化物、ヨウ化物、リン酸塩、硫酸塩、およびメシレートからなる群から選択される塩形成部分を含む、請求項88に記載の方法。

【請求項90】 前記治療化合物がエトポシドを含み、前記病態がエトポシド反応性病態である、請求項84に記載の方法。

【請求項91】 前記治療化合物がエトポシドの治療活性のいくらかまたは全てを保持しているエトポシド類似体を含み、前記病態がエトポシド反応性病態である、請求項84に記載の方法。

【請求項92】 前記治療化合物が1、2、3、または4個のPEGオリゴマーにより誘導される、請求項84に記載の方法。

【請求項93】 前記プロドラッグを、経口投与経路を含む投与経路で送達させる、請求項84に記載の方法。

【請求項94】 前記プロドラッグを、非経口投与経路を含む投与経路で送達させる、請求項84に記載の方法。

【請求項95】 前記プロドラッグを、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下、骨内、および鼻腔内からなる群から選択される経路で患者に投与する、請求項84に記載の方法。

【請求項96】 前記病態は、癌、腫瘍、悪性腫瘍からなる群から選択される、請求項84に記載の方法。

【請求項97】 前記病態は、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、精巣癌、リンパ腫、白血病、卵巣癌、および胃癌からなる群から選択される病態を含む、請求項

84に記載の方法。

【請求項98】 前記プロドラッグを、

(a) プロドラッグと、

(b) 薬学的に受容可能なキャリアと

を含む薬学的組成物の成分として投与する、請求項84に記載の方法。

【請求項99】 前記薬学的組成物が経口投与用に処方された、請求項98に記載の方法。

【請求項100】 前記薬学的組成物が非経口投与用に処方された、請求項98に記載の方法。

【請求項101】 前記薬学的組成物が錠剤、カプセル、カプレット、ゲルキャップ、丸薬、液体の溶液、懸濁液、またはエリキシル、粉末、菓子錠剤、微粉末状粒子、および浸透圧送達系からなる群から選択される投薬形態である、請求項98に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

本出願は一部継続出願であり、1999年9月13日に提出された米国仮出願番号60/153,649の優先権を主張する。

【0002】

1. 発明の背景

1.1 発明の分野

本発明は、PEGオリゴマー/ポリマーに抱合した治療化合物を含む両親媒性プロドラッグならびに経口薬物送達を可能にしおよび/または血液脳関門(BB B)を通過して薬物送達を可能にする前記プロドラッグの使用法を提供する。

【0003】

1.2 関連技術

以下は、本発明に関連する技術の考察である。

【0004】

1.2.1 中枢神経系(CNS)の癌

米国癌協会は、1999年の合衆国において16,800人が中枢神経系(CNS)の原発性腫瘍と診断され、そのうち13,100人が最終的にその疾患によって死亡していると推定している(1999年、米国癌協会)。原発性CNS腫瘍は、最も難治性の高い癌である。このような腫瘍は転移は稀であるが、その解剖学的位置により周辺組織の圧迫ならびにこのような腫瘍が浸潤した組織の破壊に起因する罹患率および死亡率が高い。さらに、CNS腫瘍細胞はしばしば腫瘍から脳内の他の位置に移動する。これらの移動細胞は、最終的には再発性腫瘍を形成する。複数のCNS腫瘍は、非CNS新生物の転移からも生じ得る。

【0005】

CNS腫瘍の標準的な治療には、手術および放射線療法が含まれる。しかし、手術に関しては完全な外科的切除はたいへん不可能である。腫瘍に隣接する正常な脳組織は、しばしば患者の生存または生活の質に重要である。したがって、手術によって治療した患者の生存率は低い。放射線療法に関する問題は、当該分野で広く一般的に知られている。

【0006】

全身の化学療法は、照射および手術によって見逃した細胞を含む腫瘍細胞の微視的沈着物を標的する能力のためにCNS腫瘍の価値のある治療オプションであろう。しかし、このような薬剤はBBBを通過できないので、CNSの化学療法での使用は非常に制限されることが判明している。腫瘍活性を有する多くの薬剤は、脳実質に侵入するためのBBBを通過しない。さらに、エトポシドを含む多くの抗腫瘍薬が脳腫瘍に蓄積されることが証明されているにもかかわらず(Kiyaya, Uozumiら、1992)、これらの薬物の濃度は腫瘍から離れるにつれて急速に減少する(Donelli, Zucchettiら、1992)。全脳の治療および薬物への腫瘍細胞の微視的沈着物の暴露を達成するために、治療濃度の抗癌薬を脳の全体積に送達させる手段を有することが望ましい。

【0007】

1. 2. 2 CNS薬物送達の関門

脳は、CNSへの治療薬送達を妨害してしまうバリア系を備えている。この脳バリア系は、2つの主要な構成要素(脈絡叢および血液脳関門(BBB))を有する。脈絡叢は脳脊髄液(CSF)と血液とを隔て、BBBは組織液(ISF)と血液とを隔てている。

【0008】

BBBは脈絡叢より約1000倍の表面積を有し、CNSへの治療化合物送達を最初に妨げる。BBBは、CNSと末梢循環との間の物質交換を調節する選択隔壁として作用する。BBBの一次構造は、脳毛細血管内皮壁である。脳毛細血管内皮壁は、傍細胞経路によって化合物が脳ISFに到達するのを防止する。さらに、最近の研究により、基底膜レベルでの離れた生理学的関門の存在が示唆されている(Krollら、1998)。BBBの他の特性には、細胞内開窓の欠如と食細胞作用小胞の欠如ならびに内皮の管腔表面の総負電荷が含まれる(Krollら、1998)。

【0009】

物質がBBBを通過する機構は、一般に、能動輸送機構と受動輸送機構とに分類することができる。親油性分子は、受動輸送または内皮原形質膜を介した拡散

によってBBBを容易に通過し、親水性分子は、典型的には能動輸送系を必要とする。多数の治療化合物のBBBを通過する拡散もまたサイズによって阻害される。

【0010】

多数の既存の薬物物質は、十分に有効な量をBBBに侵入させるための構造的関門および代謝関門を克服することができない。したがって、十分に有効な量および十分に有効な速度でBBBを介して抗癌薬を通過させることができる薬学的化合物が必要である。さらに、理論的にはその親油性のためにBBBを通過することできるはずである多数の物質は、潜在的なアレルギー性処方成分の不在下での非経口または経口送達に適切ではない。薬物の溶解性を増加させ、好ましくは経口で利用可能であり、血流に可溶であり、このような薬物のCNSへの侵入能力を改善する両親媒性ドラッグをもたらすプロドラッグが当該分野で必要とされている。逆にいうと、両親媒性プロドラッグを得るための親水性薬物の親油性を増大させたプロドラッグが当該分野で必要とされている。さらに、このような両親媒性プロドラッグはインビボで加水分解して活性親化合物を放出することが望ましい。

【0011】

1. 2. 3 CNSへの治療化合物の送達戦略

当該分野でCNSに治療化合物を送達させるための多くの試みが行われており、その成功レベルは様々である。このような試みは、一般に2つのカテゴリー（浸潤および薬理学）に分類することができる。

【0012】

浸潤性送達戦略には、例えば、機械的手法（例えば、脳室内カテーテルを移植後、脳室区画へ薬物注入）が含まれる。機械的手法の浸潤性に関する一般的検討とは別に、機械的アプローチでは主に薬物分散の欠如が問題である。例えば、CSFへの薬物の注射では一般に脳表面上にほとんど分散しない。この分散の欠如は、一部は薬物の末梢循環への急速な輸出のためである。

【0013】

CNSへの治療化合物の別の浸潤性送達戦略は、高濃度の浸透圧活性

物質（マンニトールまたはアラビノースなど）の頸動脈内注入による。その高局所濃度により脳毛細血管内皮細胞が収縮して、強固な結合が一過性に開口されて、分子をして、BBBを通過させることができる。このような手法は非常に毒性が高い（炎症、脳炎などを含む）。さらに、このような手法は選択性がない。BBBの強固な結合の開口により治療に有用な物質と共に多数の望ましくない物質がBBBを通過する。最近の浸透圧開口の概説およびBBBを通過させるための他の浸潤性手段については、Kroll、Neurosurgery、第42巻、第5号、1998年5月を参照のこと。

【0014】

したがって、所望の治療効果を誘導するのに十分な量で脳内に治療薬が蓄積するペプチドなどの治療薬がBBBを選択的に通過できる手段が当該分野で必要とされている。

【0015】

驚くべきことに、本発明者らは、小さな両親媒性ポリマーの薬物（エトポシドなど）抱合により多数の上記の問題が解決されることを発見した。このアプローチは、親分子の生理化学的性質を調和させるために、疎水性成分+親水性成分を使用したオリゴマー設計に依存する。オリゴマーの疎水性および親水性成分の分子量ならびに/またはオリゴマーの両親媒性部分の分子量の変更により、抱合分子の全体的な生理化学的プロファイルを系統的に調整して溶解性および薬物動態学が同時に変化した所望の程度の両親媒性を得ることができる。

【0016】

本発明のエトポシドプロドラッグは、有効に血液脳関門を通過することができる。本明細書中に記載の実験データおよびタイトル「血液脳関門治療薬」の米国特許出願第09/134,803で本発明者らが以前に研究した結果に基づいて、エトポシドプロドラッグは経口生物学的利用能も改善したと考えられる。薬物化合物由来のプロドラッグの加水分解速度の制御能力と組み合わせられたこれらの2つ要素により、CNS癌および他の悪性腫瘍治療のための慢性投薬計画の使用が容易になる。

【0017】

1. 2. 4 CNS腫瘍の治療

驚くべきことに、本発明者らは、本発明のオリゴマーを含む疎水性薬物の共有結合改変により、親化合物の疎水性が相殺されてその血液脳関門への浸透力が非常に改善されることを発見した。さらに、本発明者らは、完全に生体活性親薬物が遊離するインビポで加水分解する不安定な化学結合を使用した本発明のオリゴマーと親油性親化合物（例えば、エトボシド）との抱合により血流における薬物の溶解性が改善されてCNSへ薬物が送達されることを発見した。

【0018】

本発明のプロドラッグは、以下の有用な性質を示す。

- ・不活性プロドラッグ形態は投与に関連する毒性の緩和を支援すること；
- ・治療に有意な量の遊離薬物がCNSに到達すること；
- ・プロドラッグを経口経路を介してCNSに送達することができると予想されること；
- ・プロドラッグが疎水性処方物に容易に処方されること；
- ・エトボシド排泄の半減期が延長されること；および
- ・抱合体の腸から血流への通過能力が改善されること。

【0019】

1. 2. 5 CNS腫瘍の治療薬としてのエトボシド

エトボシドは、多数のエピボドフィロトキシシクラスの化合物であり、インビトロにおいて広範な腫瘍型（神経膠腫および星状細胞腫）に活性である（Giaccone、Gazdarら、1992；Kasahara、Fujiwaraら、1992；Brown、McPhersonら、1995；Chresta、Mastersら、1996；Beauchesne、Bertrandら、1998）。エトボシドは分子量が589ダルトンであり、親油性で、水にはほぼ不溶性である（Hande、1998）。結果として、典型的には、ベンジルアルコール、ポリソルベート80/Tween80、ポリエチレングリコール300、およびエタノール（VePesid（商品名）、Bristol Myers Squibb）の混合物として処方される。投与のために、VePesidを、生理学的適合性溶液中で0.2mg/mL～0.4mg/mLに希釈する。

100mg/m²～600mg/m²の静脈注射投与レベルには、0.4L～5.1Lの体積を必要とする。

【0020】

エトポシドが疎水性であるにもかかわらず、血液脳関門に容易に浸透しない。結果として、全身投与後の脳実質中のエトポシド濃度は低いままである (Hande, Wedlundら、1984; Donelli, Zucchettiら、1992; Kiy, Uozumiら、1992)。さらに、エトポシドが脳腫瘍に到達することができる一方で、腫瘍および周辺組織中のエトポシド濃度は治療量以下のままである (Donelli, Zucchettiら、1992)。神経膠腫および星状細胞腫の浸潤性および外科的切除の困難さのために、エトポシドなどの薬物を、腫瘍細胞が残存し得る脳領域に送達させる手段が緊急に必要とされている。

【0021】

エトポシドの疎水性を克服する1つの方法は、その親水性を増大させるように親化合物を化学的に変性することである。しかし、このような改変はしばしば所望の生体活性を破壊する。したがって、BBBを通過するプロドラッグの浸透性を増加させて、CNSに活性エトポシドを供給する両親媒性エトポシドプロドラッグが当該分野で必要とされている。さらに、他の投与経路（経口投与を含む）によるCNSへのエトポシドの送達を容易にするプロドラッグが必要とされている。齧歯類での生体分配研究では、静脈内エトポシドはほとんどの非CNS組織、特に肝臓及び腎臓で有意な濃度で見出された。しかし、CNSでの蓄積は非常に低い (Hande, Wedlundら、1984; Donelli, Zucchettiら、1992)。エトポシドの疎水性により、エトポシドは、CNS血管内皮に見出されるP糖タンパク質多剤ポンプまたは関連する薬物輸送体のために良好な物質となる (Schinkel, Smitら、1994; Schinkel, Wagenaarら、1996)。実験での証明により、これらの薬物輸送体は、CNS由来のエトポシドを能動的に妨害する血液脳関門の要素として作用すると示唆される (Abe, Hasegawaら、1994)。これらの薬物輸送体はまた、腸壁を通して管腔への直接的押し出しによる血液からのエト

ポシドおよび他の薬物のクリアランスを部分的に担うと考えられる (LeuおよびHuang, 1995; Mayer, Wagenaarら, 1997; Sparreboom, van Asperenら, 1997)。P糖タンパク質多剤ポンプおよびCNS内皮の関連薬物輸送によるプロドラッグ輸送を無効にすることによってCNSに治療濃度のエトポシドを送達させるように変性されたエトポシドプロドラッグが当該分野で緊急に必要とされている。

【0022】

延長されたエトポシドの投薬プログラムを開発するのに多大な努力が重ねられている (Greco, Johnsonら, 1991; Hande 1998)。これらの努力は、1日に対して3～5日の投薬計画で得られる優れた反応を示す臨床研究に基づいていた (Cavalli, Sonntagsら, 1978)。したがって、エトポシドの代謝半減期を延長するエトポシドのプロドラッグの変形物が当該分野で必要とされている。

【0023】

エトポシドはインビトロで0.1 g/mLほどの濃度で有効であることが示されている (Kasahara, Fujiwaraら, 1992)。しかし、エトポシドの除去によりトポイソメラーゼIIの阻害を逆転させ、細胞が回復する (Joel, 1996)。さらに、トポイソメラーゼIIへのエトポシドの効果は、主に細胞周期のG2期に有毒である。結果として、エトポシドでの比較的短期間の治療によりG2期の細胞が死滅するが、細胞周期の他の時期の細胞が回復する。したがって、慢性投与によって循環細胞集団の治療を拡大し、より多数の集団の細胞死を誘導するエトポシドプロドラッグが当該分野で必要とされている。

【0024】

エトポシドの半減期が比較的短いので、治療範囲の血漿エトポシド濃度を維持するためには毎日 (またはそれ以上の頻度) の静脈内注入が必要である。したがって、利便性および低コストの経口投与計画が可能なエトポシドプロドラッグが必要とされている。上記のように、経口エトポシドを使用した研究により、その生物学的利用能にばらつきがあり、医師が適切に送達する用量をほとんど確実に決定できないとの結論がある。したがって、より一貫した生体に利用可能なエト

ポシドプロドラッグが必要である。

【0025】

まとめると、複数回の延長した静脈内注射を必要としない薬物（エトポシドなど）の一貫した生物学的利用能が得られる手段が当該分野で必要とされている。さらに、治療範囲のインビボ濃度を維持するのに十分に延長された血漿半減期を有する抗癌薬（エトポシドなど）が得られるプロドラッグが必要とされている。最後に、薬物（エトポシドなど）の有効な経口送達が可能で、且つこのような経口送達プロドラッグがCNSに侵入するためにBBBを通過することができるプロドラッグが必要とされている。

【0026】

1. 2. 6 エトポシドに関連する毒性および処方に関する問題点

研究者は、化学部分の共有結合によってエトポシドの生理化学的および薬理学的性質を改変してきた。リン酸エトポシド（Etopophos（商品名）、Bristol Myers Squibb）は、エトポシドの4'位にリン酸基を含むので、水溶性が増大したプロドラッグである。リン酸基はインビボで迅速に加水分解され、化合物はエトポシドと同一の薬理学的プロファイルを有する。このエトポシド類似体の水溶性の改善により、静脈内注射の利便性が向上したが、経口生物学的利用能の改善はわずかであり、生物学的利用能の可変性は依然として高く、これはおそらくリン酸エトポシドが腸内で迅速にエトポシドに変換するためである。

【0027】

研究者によっては細胞傷害性薬物の処方物（リポソームまたはミセル形態のパクリタキセル、アドリアマイシン、およびドキソルビシンなど）を探究している。これらのストラテジーの1つの目的は、エトポシドの治療範囲の血漿濃度期間が延長される「徐放（sustained release）」エトポシドを作製することであった。第2の目的は、非標的組織へのアクセスを制限するために賦形剤中に薬物を隔離することであった。しかし、これらの粒子サイズが大きいため、このアプローチが経口生物学的利用能またはBBBの浸透性を向上させることはなさそうである。したがって、経口生物学的利用能およびBBBの浸透

性の改善を容易にするエトポシドプロドラッグが依然として必要とされている。

【0028】

第3のアプローチは、親水性ポリマーに薬物分子を抱合して溶解性を改善することである。ポリエチレングリコール（PEG）およびポリグルタミン酸は共に本ストラテジーにおいて親水性ポリマーとして使用されている。両ポリマーはエトポシドの溶解性を増大させるので、その取扱いが改善されるようである。しかし、抱合ポリマーは、比較的巨大であるので、エトポシドプロドラッグの薬物動態学が変化し、薬物ローディングが低い。したがって、プロドラッグの溶解性が改善され、上記の有利な特性を有するより小さなポリマーを有するエトポシドプロドラッグが当該分野で必要とされている。

【0029】

2. 発明の要旨

本発明は、一般に、1～25個のポリエチレングリコール単位を有する1つまたは複数の直鎖または分岐PEG-オリゴマーに加水分解性結合によって連結した薬物を含む両親媒性プロドラッグを提供する。PEG-オリゴマーは、好ましくは、アンモニウムおよびカルボン酸塩からなる群から選択されることが好ましい塩形成部分を含む。PEG-オリゴマーは、好ましくは、インビボで加水分解性結合（エステルまたは炭酸塩）によって治療化合物に連結している。

【0030】

本発明の別の態様では、両親媒性プロドラッグの薬物部分はエトポシドであるかエトポシドの治療活性のいくらかまたはすべてが保持されたエトポシド類似体である。

【0031】

特許請求の範囲に記載の両親媒性プロドラッグを、このようなPEG-オリゴマーが結合する薬物の部位の数までのPEG-オリゴマーから誘導することができる。したがって、例えば、エトポシドは3つの部位を有するので、1、2、または3つのPEG-オリゴマーから誘導することができる。

【0032】

別の態様では、両親媒性プロドラッグを経口投与経路を介して送達させて、血

流での薬物の治療有効用量を得ることができる。さらに、別の態様では、経口送達誘導体により、CNSでの治療化合物の治療有効用量を得ることができる。

【0033】

本発明はまた、薬学的に受容可能なキャリアと共に本発明の両親媒性プロドラッグを含む薬学的組成物を提供する。このような薬学的組成物を、経口投与に適切のように処方することができ、これは、当該分野で公知の広範な種々の任意の投薬形態（錠剤、カプセル、カプレット、ゲルキャップ、丸薬、液体の溶液、懸濁液、またはエリキシル、粉末、菓子錠剤、微粉末状粒子、および浸透圧送達系）であり得る。

【0034】

別の態様では、本発明は、式1～11の任意のオリゴマーからなる群から選択される1つまたは複数のPEG-オリゴマーに加水分解性結合によって連結した薬物を含む両親媒性プロドラッグを提供する。

【0035】

式1～11の上記任意のオリゴマーはまた、塩形成部分を適切に含み得る。好ましい塩形成部分は、アンモニウムおよびカルボン酸塩である。好ましい薬物は、エトポシドおよびエトポシドの治療活性のいくらかまたは全てを保持するかエトポシドと比較して活性が改良されたエトポシド類似体である。薬物は、このようなPEG-オリゴマーの結合部位数を超えないPEG-オリゴマー数により誘導される。したがって、両親媒性薬物がエトポシドの場合、式1～11の1、2、または3つのPEG-オリゴマーから誘導することができる。

【0036】

本発明はまた、式1～11の両親媒性プロドラッグおよび薬学的に受容可能なキャリアを含む薬学的組成物を提供する。薬学的組成物を経口投与に適切のように処方することができ、これは、任意の種々の薬学的投薬形態（錠剤、カプセル、カプレット、ゲルキャップ、丸薬、液体の溶液、懸濁液、またはエリキシル、粉末、菓子錠剤、微粉末状粒子、および浸透圧送達系など）であり得る。

【0037】

本発明はまた、エトポシド反応性病態を有する哺乳動物被験体の治療法であっ

て、前記方法は、少なくとも1つの治療化合物と、それぞれ加水分解性結合によって治療化合物に連結する1つまたは複数のPEGポリマーおよび／またはオリゴマーとを含み、前記PEGポリマーおよび／またはオリゴマーは、それぞれ2～25個のポリエチレングリコール単位からなる直鎖または分岐PEGセグメントを含むプロドラッグを疾患治療有効量で患者に投与することとを包含する方法を提供する。オリゴマーは、任意選択的に塩形成部分を含む。

【0038】

本発明はまた、任意の式1～11から誘導される治療有効量の薬物を患者に投与することを包含する、エトポシド反応性疾患を有する哺乳動物被験体の治療法を提供する。

【0039】

本発明の方法の1つの態様では、両親媒性プロドラッグを、血流での薬物の治療有効量を得るために、経口投与経路を介して送達させる。別の態様では、非経口投与経路を介して両親媒性プロドラッグを送達させて、脳への薬物の治療有効量を得る。さらに別の態様では、経口投与経路を介して両親媒性プロドラッグを送達させて、脳への薬物の治療有効量を得る。さらに、両親媒性プロドラッグを薬学的に受容可能なキャリアと共に投与することができる。

【0040】

さらなる態様では、本発明の治療法にしたがって治療される疾患には、癌、腫瘍、および悪性腫瘍（急性骨髄性白血病、膀胱癌、乳癌、胃腸管癌、ユーイング肉腫、ホジキンリンパ腫、カボジエ肉腫、白血病、肺癌、リンパ腫、非ホジキンリンパ腫、卵巣癌、小細胞肺癌、および精巣癌など）が含まれる。

【0041】

2. 1 定義

本明細書中で使用される、用語「PEG」は、直鎖または分岐ポリエチレングリコールポリマーおよびモノマーをいう。用語「PEG-オリゴマー」は、このようなポリマーの両親媒性を喪失しない基（限定されないが、例えば、アルキル、アリール、アミノアルキル、およびアミノアリール（「発明の詳細な説明」の第4節に記載の式2～11もまた参照のこと）を含むように改変されたPEG

ポリマーを含むオリゴマーをいう。用語「PEGサブユニット」または「PEG単位」は、単一のポリエチレングリコール単位（すなわち、 $-(CH_2CH_2O)-$ ）をいう。本明細書中で使用される、用語「PEGオリゴマー／ポリマー」は、PEGオリゴマーおよび／またはPEGポリマーをいう。

【0042】

本明細書中で使用される、「非加水分解性」などの用語および「加水分解可能ではない」などの句を使用して、通常の生理学的条件下では加水分解することができない結合および通常の生理学的条件下では急速に加水分解されない結合（カルバメートおよびアミド結合）をいう。用語「加水分解性」は、通常の条件下で加水分解される結合（エステル結合およびカーボネート結合）をいう。

【0043】

「治療有効」量または用量は、疾患および他の有害な病態発症の重症度を防止、遅延、または緩和する量もしくは用量または進行中の疾患もしくは有害な病態の重症度を停止させるが緩和するために必要な量であり、正常な生理学的機能を向上させるために必要な量も含まれる。

【0044】

本明細書中で使用される、本発明の処方物の「薬学的に受容可能な」成分（塩、キャリア、賦形剤、または希釈剤）は、（1）プロドラッグの生物活性を喪失することなく本発明のプロドラッグと組み合わせることができるという点で、処方物の他の成分に適合することができ、（2）過度の副作用（毒性、炎症、およびアレルギー反応など）を起こすことなく動物（ヒトを含む）での使用に適切である成分である。副作用は、そのリスクが薬学的組成物から得られる利点を超える場合、「過度」である。薬学的に受容可能な成分の例には、リン酸緩衝化生理食塩水、水、乳濁液（油／水乳濁液、マイクロエマルジョンなど）、および種々の型の湿潤剤が含まれるが、これらに限定されない。

【0045】

4. 発明の詳細な説明

参照を容易にするためのみに詳細な説明を2つの節に分ける。件名は、本発明の範囲の限定を意図しない。

【0046】

4. 1 本発明のプロドラッグ

本発明は、薬物-PEGオリゴマー/ポリマープロドラッグを提供する。本発明のプロドラッグは、一般に、薬物部分およびPEG-オリゴマー/ポリマー部分を含む。プロドラッグは、薬物の処方、薬物の経口送達、およびBBBを介した薬物の送達の向上に有用である。これらの利点を、分子の両親媒性の増大によって向上させる。したがって、薬物分子が親水性である場合、PEG-オリゴマー/ポリマーは親油性を増大させるので、プロドラッグの両親媒性が改善される。それに対して、薬物が親油性である場合、PEG-オリゴマー/ポリマーは薬物の親水性を増大させるので、より両親媒性の高いプロドラッグが得られる。通常の生理学的条件下で加水分解して活性な親化合物を放出する結合によってPEG-オリゴマー/ポリマーを薬物に結合させる。

【0047】

4. 1. 1 プロドラッグの薬物成分

本発明のプロドラッグは薬物成分を含む。適切な薬物成分は、オリゴマーの結合部位として作用する遊離の水酸基、チオ、リン酸基、またはアミノ基を有する治療化合物である。好ましい薬物成分は、エピボドフィロトキシンおよびその類似体（エトボシド、テニボシド、およびリン酸エトボシドなど）である。エトボシドの構造式を図1に記載する。

【0048】

本発明の1つの態様では、薬物成分はエトボシド類似体である。エトボシド自体よりも有効性が高いまたは低い多数のエトボシド類似体が当該分野で公知である。本発明は、活性が完全に減少していない任意のエトボシド類似体の使用を意図する。

【0049】

プロドラッグでの使用に適切な他の薬物には、バクリタキセルおよびドデタキセルが含まれる。さらに別のものは、米国特許第5,795,909号（本明細書中で参考として援用される）に列挙されている。

【0050】

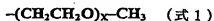
4. 1. 2 PEG-オリゴマー／ポリマー

本発明のプロドラッグの両親媒性PEG-オリゴマー／ポリマーは、直鎖でも分岐鎖でもよい。好ましいオリゴマー／ポリマーは、2～25個のPEG単位、より好ましくは2～20個のPEG単位、さらにより好ましくは2～15このPEG単位を有するPEGポリマーを含む。理想的には、PEGポリマーは2～10個のPEG単位を有する。別の態様では、PEGポリマーは1000を超えない分子量である。

【0051】

好ましい様式では、PEGポリマーは、式：

【化31】



(式中、X=2～25)を有する。

【0052】

より好ましい様式では、式1のXは2～25であり、さらにより好ましい様式では2～20であり、さらにより好ましくは2～15であり、最も好ましくは2～10である。理想的には、Xは2、3、4、5、6、7、8、9、または10である。

【0053】

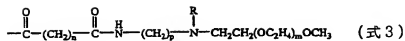
好ましいPEGオリゴマーは、

【化32】



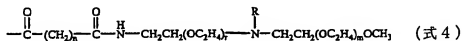
(式中、nは1～7であり、mは2～25であり、Rは好ましくは水素、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、およびt-ブチルからなる群から選択される低級アルキルである)、

【化33】



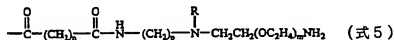
(式中、nは1～6であり、pは2～8であり、mは2～25であり、Rは好ましくは水素、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、およびt-ブチルからなる群から選択される低級アルキルである)、

【化34】



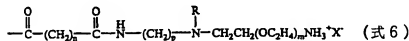
(式中、nは1～6であり、mおよびrはそれぞれ独立して2～25であり、Rは好ましくは水素、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、およびt-ブチルからなる群から選択される低級アルキルである)、

【化35】



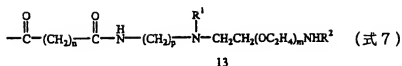
(式中、nは1～6であり、pは2～8であり、mは2～25であり、Rは好ましくは水素、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、およびt-ブチルからなる群から選択される低級アルキルである)、

【化36】



(式中、nは1～6であり、pは2～8であり、mは2～25であり、X⁻は好ましくは、クロロ、ブロモ、ヨード、リン酸塩、酢酸塩、炭酸塩、硫酸塩、トシレート、およびメシレートからなる群から選択される陰イオンであり、Rは好ましくは水素、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、およびt-ブチルからなる群から選択される低級アルキルである)、

【化37】



(式中、nは1～6であり、pは2～8であり、mは2～25であり、R¹およびR²はそれぞれ独立して好ましくはメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、およびt-ブチルからなる群から選択される低級アルキルである)、

【化38】



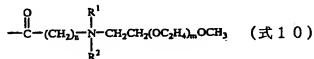
(式中、nは1～6であり、pは2～8であり、mは2～25である)、

【化39】



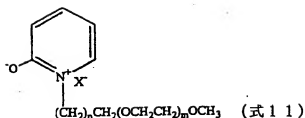
(式中、nおよびpはそれぞれ独立して1～6であり、mは2～25であり、X⁺は好ましくは水素、ナトリウム、カリウム、カルシウム、リチウム、およびアンモニウム塩からなる群から選択される陽イオンである)、

【化40】



(式中、nは1～5であり、mは2～25であり、R¹およびR²はそれぞれ独立して好ましくは水素、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、およびt-ブチルからなる群から選択される低級アルキルである)

【化41】



(式中、 n は1～6であり、 m は2～25であり、 X^- は好ましくは、クロロ、ブロモ、ヨード、リン酸塩、酢酸塩、炭酸塩、硫酸塩、トシレート、およびメシレートからなる群から選択される陰イオンである) からなる群から選択される。

【0054】

上記の任意の式1～11では、全PEG単位数は、好ましくは2～25個であり、より好ましくは2～20個であり、さらにより好ましくは2～15個であり、最も好ましくは2～10個である。理想的には、全PEG単位数は、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個である。2個のPEGポリマーセグメントを含む式4などの式では、本段落中の上記の好ましいPEG単位数を、2つのポリマーセグメントのいずれかに完全に含んでも、2つのPEGポリマーセグメント間で分散されていても良い。

【0055】

PEG-オリゴマー／ポリマーはまた、1つまたは複数の塩形成部分を含み得る。好ましい塩形成部分は、アンモニウムおよびカルボン酸塩である。適切な塩には、塩基性のアミノ基を有するPEG-オリゴマー／ポリマーの任意の薬学的に受容可能な酸添加塩および、例えば遊離のカルボキシル基を有するPEG-オリゴマー／ポリマーの薬学的に受容可能な塩基から誘導される薬学的に受容可能な塩も含まれる。酸の薬学的に受容可能な塩を、遊離の酸と適切な塩基との処理によって調製することができる。薬学的に受容可能な塩基には、例えば、アルカリ金属塩（ナトリウムまたはカリウムなど）、アルカリ土類金属塩（ナトリウムまたはカリウムなど）、アルカリ土類金属塩（カルシウムまたはマグネシウムなど）、およびアンモニウム塩またはアルキルアンモニウム塩が含まれる。

【0056】

4. 1. 3 PEG-オリゴマー／ポリマーへの親油性薬物の結合

本発明のアプローチの鍵となる特徴は、エトボシドにPEG-オリゴマー／ポリマーが結合する化学結合の性質である。第1に、親薬物がオリゴマーによって保護および送達されて、結合の加水分解によって活性親薬物が遊離しなければならない。第2に、2つの部分の連結に使用された化学結合の型はインビボでの加水分解が可能のように選択されて、治療有効量の活性親薬物を放出すべきである。好ましい加水分解性結合には、エステルおよびカーボネートが含まれる。

【0057】

PEG-オリゴマー／ポリマーは、親薬物化合物の遊離の水酸基、チオ、リン酸塩、またはアミノ基で親薬物と適切に結合する。図1は、エトボシド分子へのオリゴマーの適切な結合点を示す。薬物がエトボシドまたは類似の物質である場合、本発明のプロドラッグ溶液は、1、2、および／または3置換プロドラッグの混合物を含み得ることが当業者に認識される。

【0058】

4.2 エトボシド-PEG抱合体の作製法

エトボシドは市販されており、公知の合成法で調製することができる。例として、n、m、p、およびRなどの記号は一般式1〜11に記載の通りである。

【0059】

4.2.1 式1

式1のポリマーは市販されており、そして／または過度の実験を行うことなく当業者が容易に合成できる。

【0060】

4.2.2 式2

式2：

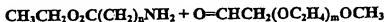
【化42】



(式中、nは1〜7であり、mは2〜25であり、Rは低級アルキルである)のオリゴマーの合成では、第一級アミノ部分を有する末端炭素を有する脂肪酸エス

テルから開始することが望ましい。このような化合物は市販されている。不活性溶媒中のアミノエステルを、アルデヒド末端炭素を有する適切な分子量のモノメトキシポリエチレングリコール溶液で処理後、ホウ化水素ナトリウム溶液を添加する。溶媒抽出後にプロドラッグを、カラムクロマトグラフィーで精製した。

【化43】



(式中、n および m は上記定義のとおりである)

【0061】

第二級アミン部分をアルキル化して第三級アミンを有する所望のオリゴマーを形成させることが望ましい場合がある。オリゴマーの不活性溶媒溶液を、1当量のハロゲン化アルキルで処理する。生成物を溶媒抽出後にカラムクロマトグラフィーによって精製する。

【化44】



【0062】

室温の不活性溶媒中での水酸化ナトリウムの希釈溶液との処理によってエステルを酸に変換する。遊離の酸を、溶媒抽出後にカラムクロマトグラフィーによって精製する。現場 (in situ) 活性化後に酸を薬物とカップリングさせる。

【化45】



1. 薬物-OH
2. シンクロヘキシルカルボノールアミト[®](DCCE)
及び 4-ジメチルアミルピリン(DMAP)



これらの実施例中の薬物は、例えば、エトポシドであり得る。

【0063】

ハロゲン化物を有する末端炭素を有する脂肪酸と第一級アミノ部分を有する末端炭素を含む適切なモノメトキシーポリエチレングリコールとのエステルとして誘導された治療化合物から出発して薬物-オリゴマーを合成することが望ましい場合がある。ポリエチレングリコール試薬を室温の不活性溶媒に溶解する。同量の薬物-ハロゲン化物を不活性溶媒に溶解し、ポリエチレングリコール溶液にゆっくりと添加する。溶媒抽出後に生成物をカラムクロマトグラフィーを用いて精製した。

【化46】



【0064】

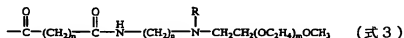
エステルを、上記の手順のように水酸化ナトリウムの希釈溶液で加水分解し、上記の実施例のように現場活性化後に薬物（例えば、エトボシド）とカップリングさせる。

【0065】

4. 2. 3 式3

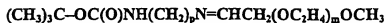
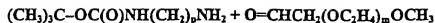
式3：

【化47】



（式中、nは1～6であり、pは2～8であり、mは2～25であり、Rは低級アルキルである）のオリゴマーの合成では、脂肪族化合物のジカルボン酸とアミノ含有ポリエチレンとの半エステルから開始することが望ましい。アミノ含有ポリエチレンの合成では、末端にアルデヒド部分を有する適切な分子量のモノメチルポリエチレングリコールを、不活性溶媒中で、2つの末端炭素部にアミノ部分を有する脂肪族化合物で処理する。1つのアミノ部分をtert-ブトキシカルボニルで保護する一方で、遊離アミンをアルデヒド部分と反応させる。生成物を、溶媒抽出後にカラムクロマトグラフィーによって精製する。生成物を不活性溶媒中でのトリフルオロ酢酸での処理によって保護し、酸で中和し、溶媒抽出後にカラムクロマトグラフィーを用いて精製する。

【化48】



【0066】

不活性溶媒中の半エステルを、酸の現場活性化後に室温のアミノ誘導ポリエチレングリコール溶液で処理する。生成物を溶媒抽出後にカラムクロマトグラフィーによって精製する。イミノ部分を、ホウ化水素ナトリウム溶液での処理によって還元し、上記手順のように精製する。

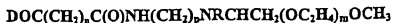
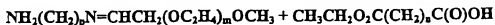
【0067】

第二級アミンをアルキル化することが望ましい場合がある。この目的を達成するために、オリゴマーを不活性溶媒に溶解し、ハロゲン化アルキルの不活性溶媒溶液で処理させる。

【0068】

エステルを加水分解し、現場で活性化し、治療薬（例えば、エトポシド）とカップリングさせる。

【化49】



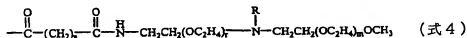
(式中、Dは薬物一両親媒性抱合体の薬物成分を示す)。両親媒性薬物抱合体を塩に変換して必要に応じて薬学的に受容可能な酸を使用して水溶性を改良する。

【0069】

4. 2. 4 式4

式4：

【化50】



(式中、nは1～6であり、mおよびrはそれぞれ独立して2～25であり、R

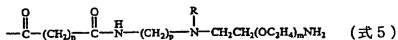
は低級アルキルである) のオリゴマーの合成手順は、脂肪族ジアミノ部分をポリエチレングリコールジアミンと置換する以外は式3のオリゴマーと同一である。

【0070】

4. 2. 5 式5

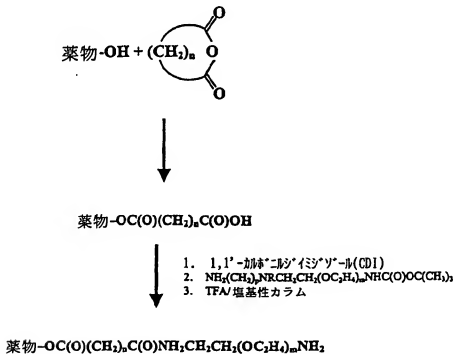
式5:

【化51】



(式中、nは1～6であり、pは2～8であり、mは2～25であり、Rは低級アルキルである) のオリゴマーを含むプロドラッグの合成では、水酸基部分をする薬物を、不活性溶媒中で脂肪酸無水物で処理して半エステルを形成する。半エステルを不活性溶媒中に溶解し、適切な分子量のポリエチレングリコール1当量で処理し、末端水酸基部分をアミノ部分と置換する。

【化52】



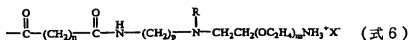
(全ての置換基 (例えば、n、m、およびp) を上記のように定義する)

【0071】

4. 2. 6 式6

式6:

【化53】



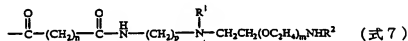
(式中、nは1～6であり、pは2～8であり、mは2～25であり、X⁻は陰イオンである)のオリゴマーを、式5で示した化合物と薬学的に受容可能な酸との反応によって調製して、適切な塩を得た。塩は、両親媒性薬物抱合体の水溶性を増大させる。

【0072】

4. 2. 7 式7

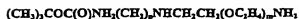
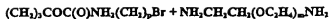
式7:

【化54】

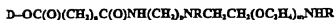


(式中、nは1～6であり、pは2～8であり、mは2～25であり、R¹およびR²はそれぞれ独立して低級アルキルである)のオリゴマーの合成は、末端アミノ部分をメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、またはt-ブチルなどの短鎖アルキル基のハロゲン化物でアルキル化後、薬物の半エステルと反応させる以外は式5のオリゴマーの合成と同様である。

【化55】



1. RBr
2. TFA
3. 塩基性カラム
4. $\text{D-O}_2\text{C}(\text{CH}_2)_p\text{CO}_2\text{H/DCC}$



(n、m、およびRは上記定義のとおりである)

【0073】

4. 2. 8 式8

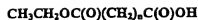
式8：

【化56】



(式中、nは1～6であり、pは2～8であり、mは2～25である)のオリゴマーの合成では、脂肪族ジカルボン酸の半エステルを、現場活性化後に不活性溶媒中で予めアミノ部分で誘導化したポリエチレングリコールで処理する。

【化57】



+



1. DCC; 2. NaOH



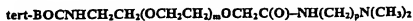
【0074】

アミノ誘導ポリエチレングリコールを、N末端保護ポリエチレングリコールアミノ酸から調製する。

【化58】



DCC/DMAP



TFA/塩基性カラム



【0075】

第一級アミノ部分をトリフルオロ酢酸で脱保護し、塩基化して半エステルで処理する。

【0076】

4. 2. 9 式9

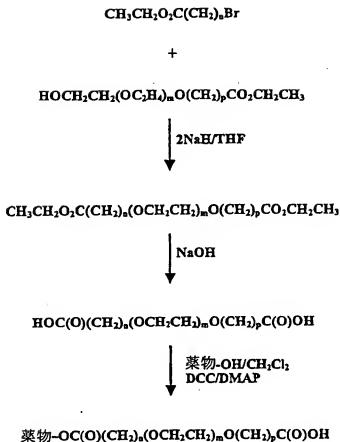
式9：

【化59】



(式中、nおよびpはそれぞれ独立して1～6であり、mは2～25であり、X⁺は陽イオンである)のオリゴマーの合成では、出発酸は市販されている。二価酸を調製することが望ましいことがある。この目的を達成するために、適切な変性ポリエチレングリコールオリゴマーを不活性溶媒中で水素化ナトリウムおよび末端炭素にハロゲン化部分を有する脂肪酸エステルで処理する。カルボン酸ジエステルを水酸化ナトリウムの希釈溶液中で加水分解し、現場活性化後に薬物部分にカップリングさせる。所望の生成物を、カラムクロマトグラフィーによって分離および精製する。

【化60】



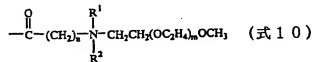
(n、m、およびpは上記に定義の通りである)

【0077】

4. 2. 10 式10

式10:

【化61】



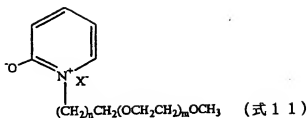
(式中、nは1～5であり、mは2～25であり、R¹およびR²はそれぞれ独立して低級アルキルである)のオリゴマーの合成は、アミノ部分を短鎖脂肪族部分で4価にする以外は、式2のオリゴマーの合成と同様である。メトキシ部分は他の短鎖(1～6個の炭素)脂肪族部分を含むことができることに留意のこと。

【0078】

4. 2. 11 式11

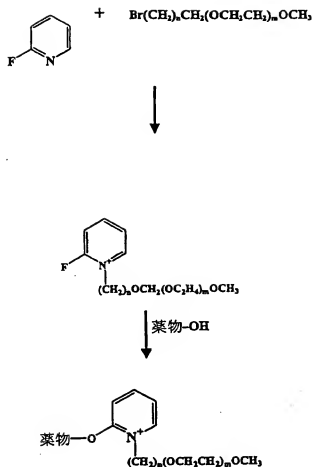
式11:

【化62】



(式中、 n は1～6であり、 m は2～25であり、 X^- は陰イオンである)のオリゴマーの合成では、2-フルオロまたは4-フルオロピリジンを不活性溶媒中でハロゲン化物、トシレート、またはメシレートを有する末端炭素を有するモノメトキシポリエチレングリコールで処理する。このピリジニウム誘導体を沈殿させ、適切な溶媒で分産 (triturated) して、乾燥する。塩の不活性溶媒溶液を4価の塩の化合物を形成する塩基の存在下で薬物 (エトポシドなど) で処理して、ポリエチレングリコールピリジニウム誘導体を得る。

【化63】



【0079】

4. 2. 1 2 治療化合物へのPEGポリマー／オリゴマーの結合

以下の手順を例としてエトポシドを使用して具体的に示すが、この手順は、他の治療薬も同様に適用可能であることが当業者に理解される。本発明のPEGオリゴマー／ポリマーを、一般的な合成手順にしたがってエトポシドに結合することができる。エトポシドを実質的にドライの有機溶媒（例えば、クロロホルム）に溶解する。ピリジンまたは別の4価の化合物を形成する薬剤を上記の混合物に添加する。活性化PEGオリゴマー／ポリマーを滴下し、混合物を3～5時間攪拌する。次いで、反応混合物を1% H₂SO₄および脱イオン水で洗浄し、MgSO₄で乾燥し、濃縮する。残渣に、展開溶媒として例えばクロロホルム-メタノール（90%～10%）を使用したシリカゲルカラムでクロマトグラフ分析を行う。所望の生成物を含むフラクションを回収し、濃縮し、乾燥する。生成物を

TLC、HPLC、NMR、および/またはMSで特徴づける。

【0080】

4. 3 薬学的組成物およびその使用方法

有効成分として新規のプロドラッグを含む薬学的組成物は、プロドラッグの活性が完全に減少していない当該分野で公知の薬学的に受容可能な任意の投薬形態であり得る。例として、経口、注射、または静脈内に含まれる。各投薬形態は、有効量のプロドラッグおよび薬学的に不活性な成分（例えば、従来の賦形剤、賦形剤、充填剤、結合剤、崩壊剤、溶媒、可溶化剤、甘味料、着色料、および薬学的投薬形態に一樣に含まれる他の任意の成分）を含む。適切な経口投薬形態には、錠剤、カプセル、カプレット、ゲルキャップ、丸薬、液体の溶液、懸濁液、またはエリキシル、粉末、菓子錠剤、微粉末状粒子、および浸透圧送達系が含まれる。適切な注射用および静脈内投与形態には、適切な緩衝液および防腐剤を含む等張生理食塩水またはデキストロース溶液が含まれる。多くのこのような投薬形態および賦形剤ならびにその不活性成分のリストは当該分野で周知であり、The Pharmaceutical Codex: Principles and Practice of Pharmaceuticals、第12版、1994などの標準的なテキストに記載されている。

【0081】

本発明はまた、腫瘍、癌、または特定の治療化合物（例えば、エトポシドなどの抗癌薬）に反応する他の病状を有する哺乳動物被験体の治療法を含む。本方法は、薬学的に有効量の本発明の薬物—オリゴマープロドラッグを含む薬学的組成物を被験体に投与する工程を包含する。本発明によって治療することができる疾患/病態には、癌、腫瘍、および悪性腫瘍が含まれるが、これらに限定されない。本発明によって治療することができる疾患/病態には、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、精巣癌、リンパ腫、白血球、卵巣癌（特に、再発または難治性卵巣癌）、および胃癌が含まれるが、これらに限定されない。

【0082】

本発明のプロドラッグを、錠剤、カプセル（定期および徐放性処方物）、丸薬、粉末、顆粒、エリキシル、チンキ、懸濁液、シロップ、および乳濁液などの経

口（舌下および舌下を含む）投薬形態で投与することができる。同様に、プロドラッグを鼻腔、眼、耳、直腸、局所、静脈内（ボラスおよび注入）、腹腔内、関節内、皮下、または筋肉内吸入、またはガス注入形態（使用形態の全てが薬学分野の当業者に周知である）で投与することもできる。

【0083】

本発明のプロドラッグを利用した投薬計画を、種々の要因（患者の型、種、年齢、体重、性別、および健康状態）、治療される病態の重症度、投薬経路、患者の腎機能および肝機能、ならびに使用される特定の化合物またはその塩にしたがって選択する。医師および獣医は、病態の進行を防止、反転、または停止させるための有効量を容易に決定して処方することができる。

【0084】

一般に、ヒトへの投与には経口投与が好ましい。比較的低用量で十分である場合や、比較的高用量または複数回の投与が必要な場合もある。同様に、局所投与は、通常の医学的検討材料に依存して1日1回よりも1回またはそれ以上の回数であり得る。有利には、本発明のプロドラッグを、1日に単回用量で投与するか、1日の全投与量を1日に2回、3回、または4回に分けて投与することができる。

【0085】

本発明の方法では、プロドラッグは有効成分を形成することができ、典型的には、意図される投与形態（すなわち、経口用錠剤、カプセル、エリキシル、シロップなど）に関して適切に選択され、従来の薬学実務に一致する適切な薬学的希釈剤、賦形剤、またはキャリア（本明細書中では集合的に「キャリア」という）との混合物で投与する。

【0086】

例えば、錠剤またはカプセルの形態での経口投与のために、薬物有効成分を、経口用で無毒の薬学的に受容可能な不活性キャリア（エタノール、グリセロール、水など）と組み合わせることができる。化合物の適切に細かいサイズへの粉碎および薬学的キャリア（例えば、デンプンまたはマンニトールなどの食用炭水化物）での同様の粉碎によって調製する。香料、防腐剤、分散剤、および着色料が

存在しても良い。

【0087】

上記の粉末混合物および充填用のゼラチン鞘の調製によってカプセルを作製する。潤滑剤および減摩剤（コロイドシリカ、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、または固体ポリエチレングリコールなど）を、充填操作前に粉末混合物に添加することができる。崩壊剤または可溶化剤（寒天－寒天、炭酸カルシウム、または炭酸ナトリウムなど）を添加してカプセル摂取時の薬物の利用能を改良することもできる。

【0088】

さらに、所望または必要ならば、適切な結合剤、滑沢剤、崩壊剤、および着色料を混合物に組み込むこともできる。適切な結合剤には、デンプン、ゼラチン、天然の糖（グルコースまたはβラクトース、コーン甘味料）、天然および合成ガム（アカシア、トラガカント、またはアルギン酸ナトリウム）、カルボキシメチルセルロース、ポリエチレングリコール、ワックスなどが含まれる。これらの投薬形態で使用される減摩剤には、オレイン酸ナトリウム、ステアリン酸ナトリウム、ステアリン酸マグネシウム、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウムなどが含まれる。崩壊剤には、デンプン、メチルセルロース、寒天、ベントナイト、キサンタンガムなどが含まれるが、これらに限定されない。錠剤を、例えば、粉末混合物の調製、顆粒および小塊の形成、滑沢剤および崩壊剤の添加、および錠剤への圧縮によって処方する。粉末混合物を、適切に粉碎した薬物－オリゴマーブロッカドと上記の希釈剤または基剤および任意選択的に結合剤（カルボキシメチルセルロース、アルギン酸塩、ゼラチン、ポリビニルピロリドンなど）、溶液遅延剤（パラフィンなど）、吸収促進剤（4価の塩など）および/または吸収剤（ベントナイト、カオリン、またはリン酸二カルシウムなど）との混合によって調製する。粉末混合物は、結合剤（シロップ、デンプンペースト、アカディアゴム、またはセルロースもしくは重合物質など）での湿潤および/または押出しによって顆粒化することができる。顆粒化の代わりとして、粉末混合物を、打錠機にかけて顆粒に碎ける不完全に形成された小塊を得ることができる。ステアリン酸、ステアリン酸塩、タルク、または鉱物油の添加によ

て顆粒を潤滑処理して、錠剤形成型への付着を防止することができる。潤滑処理した混合物を錠剤に圧縮する。本発明のプロドラッグを、有利の浮遊不活性キャリアと組み合わせて、顆粒化または小塊化工程を経ずに直接錠剤に圧縮することもできる。セラックのシーリングコートからなる透明または不透明な保護被覆、糖または高分子物質の被覆、およびワックスの光沢被覆を備えさせることができる。これらの被覆に色素を添加して、異なる単位投薬量を区別することができる。

【0089】

経口用流体（溶液、シロップ、およびエリキシルなど）を、所定の量が、予め決定した量の化合物を含むように、単位投薬形態で調製することができる。シロップを、適切に香料を添加した水溶液中への化合物の溶解によって調製することができ、エリキシルを無毒のアルコール賦形剤の使用によって調製する。懸濁液を、無毒の賦形剤への化合物の分散によって調製することができる。可溶化剤および乳化剤（エトキシル化イソステアリアルアルコールおよびポリオキシエチレンソルビトールエーテルなど）、防腐剤、香料（ペパーミントオイルおよびサッカリン）などを添加することもできる。

【0090】

適切ならば、経口投与用の投薬単位処方物をマイクロカプセル化することができる。処方物は、例えば、被覆またはポリマー（ワックスなど）中への特定の物質の包埋によって徐放させるように調整することもできる。

【0091】

本発明のプロドラッグを、リポソーム送達系形態（小さな単膜リポソーム、大きな単膜リポソーム、および多重膜リポソームなど）で投与することもできる。リポソームを、種々のリン脂質（コレステロール、ステアリアルアミン、またはホスファチジルコリンなど）から形成することができる。

【0092】

本発明のプロドラッグを、化合物分子をカップリングさせた個々のキャリアとしてのモノクローナル抗体の使用によって送達させることもできる。本発明のプロドラッグを、可溶性ポリマー（標的可能な薬物キャリアなど）とカップリング

することもできる。このようなポリマーには、ポリビニルピロリドン、ピランコポリマー、ポリヒドロキシプロピルメタクリルアミドフェノール、ポリヒドロキシエチルアスパルタミドフェノール、またはパルミトイル残基で置換されたポリエチレンオキシドポリリジンを含み得る。さらに、本発明のプロドラッグを、薬物の制御された放出の達成に有用な生分解性ポリマーのクラス（例えば、ポリ乳酸、ポリε-シロンカプロラクトン、ポリヒドロキシ酪酸、ポリオルソエステル、ポリアセタール、ポリジヒドロピラン、ポリシアノアクリレート、およびヒドロゲルの架橋または両親媒性ブロックコポリマー）にカップリングすることができる。

【0093】

本発明には、薬学的に受容可能なキャリアと組み合わせた約0.01～約99.5%、より詳細には約0.5～約90%の薬物-オリゴマープロドラッグを含む薬学的組成物が含まれる。

【0094】

皮下、筋肉内、または静脈内注射を意図した液体投薬単位形態（滅菌溶液および懸濁液など）の利用によって経口投与を行うことができる。これらは、注射に適切な無毒の液体媒介物（例えば、含水親油性媒体）へ秤量した薬物-オリゴマープロドラッグを懸濁または溶解させ、かつ懸濁液または溶液を滅菌して調製する。

【0095】

あるいは、秤量薬物-オリゴマープロドラッグを、バイアルにいれ、そのバイアルおよび内容物を滅菌して密封する。付随のバイアルまたは媒介物を投与前の混合用に準備することができる。無毒の塩および塩溶液を添加して注射物質を等張にすることができる。安定剤、保存剤、および乳化剤を添加することもできる。

【0096】

薬物-オリゴマープロドラッグを低融解温度の水溶性または不溶性固体（ポリエチレングリコール、ココアバター、高級エステル（例えば、風味付けした水溶液）など）と混合した座薬を利用して直腸投与を行い、他方、エリキシルをパル

ミチン酸ミリスチルまたはその混合物によって調製することができる。

【0097】

本発明の局所用処方物は、例えば、軟膏、クリーム、またはローション、眼用軟膏、および眼および耳用滴剤、浸透性包帯剤およびエアロゾルであってよく、適切な従来の保存剤などの添加物、薬物の浸透性を補助するための溶媒、および軟膏およびクリーム中の皮膚軟化剤を含むことができる。処方物はまた、従来の適合性キャリア（クリームまたは軟膏の基剤など）およびローション用のエタノールまたはオレイルアルコールを含むことができる。このようなキャリアは、処方物の約1%～約98%で存在し得る。より通常には、キャリアは、処方物の約80%までである。

【0098】

吸入投与のために、本発明のプロドラッグを適切な噴霧剤（例えば、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、テトラフルオロエタン、ヘプタフルオロプロパン、二酸化炭素、または他の適切なガス）を使用する圧縮パックまたは噴霧器からのエアゾールスプレー形態において便利に送達させる。圧縮エアゾールの場合、エアゾール投薬単位は、秤量した量を送達するための弁によって決定することができる。本発明の化合物の粉末混合物および適切な粉末基剤（ラクトースまたはデンプン）を含む、例えば吸入または吸入器用のゼラチンのカプセルおよびカートリッジを処方することができる。

【0099】

好ましい薬学的組成物は、錠剤および液体などの経口投与ならびに局所処方物に適切な形態である。

【0100】

プロドラッグを、適切な投薬形態のみまたは経口用生物学的利用能促進剤と共に患者に経口投与することもできる。このような生物学的利用能促進剤を、シクロスポリンA～Z、(Me-11e-4)-シクロスポリン、ジヒドロシクロスポリンA、ジヒドロシクロスポリンC、アセチルシクロスポリンA、ゲンステイン、および関連イソフラボノイド、ケルセチン、カルホスチン、セラミド、モル

ヒネ、およびモルヒネ族からなる群から選択することができる。好ましい促進剤は、シクロスポリンA、シクロスポリンC、シクロスポリンD、シクロスポリンF、ジヒドロシクロスポリンA、ジヒドロシクロスポリンC、およびアセチルシクロスポリンAである。

【0101】

さらに、本発明のプロドラッグを単独または化学療法薬（例えば、他の抗癌薬）（例えば、アムサクリン、アナストロゾール、アスパラギナーゼ、アスパラギナーゼ1水和物、アゼライン酸、コリネバクテリウムバルバム、ダカルバジン、ドセタキセル、ドセタキセル無水物、エルウィニアアスパラギナーゼ、エトポシド、リン酸エトポシド、ホルムエスタン、ガリウム、硝酸ガリウム、ミトタン、ミトキサントロン、塩酸ミトキサントロン、パクリタキセル、パクリタキセル半合成物、ペガスパラガーゼ、プロカルバジン、塩酸プロカルバジン、ラゾキシサン、タモキシフェン、クエン酸タモキシフェン、テニポシド、およびトポテカン）と共に投与することができる。本発明のプロドラッグを用いた併用療法に好ましい化学療法薬を、シスプラチン、メトトレキセート、シトシンアラビノシド、およびトポイソメラーゼインヒビターから選択することができる。本発明のプロドラッグを他の化学療法薬と投与する場合、プロドラッグおよび他の化学療法薬を同時または連続的に投与することができる。さらに、薬物の成分である本発明の薬物-オリゴマープロドラッグは、抗癌薬（エトポシド、パクリタキセル、またはドセタキセル）であり、プロドラッグを放射線療法の前、後、または同時に投与することができる。

【0102】

5. 実施例

本発明のプロドラッグの構築には、PEG-オリゴマー/ポリマーの合成およびその後の薬物への抱合を含んでいた。例として、薬物としてエトポシドを使用した。本発明のPEG-オリゴマー/ポリマーのための適切な結合点（例えば、水酸基）を有する他の薬物を適切に使用することができることが認識される。出願人は、パクリタキセルを使用してもこの同一の一般的アプローチ（すなわち、治療薬の水酸基へのPEG-オリゴマー/ポリマーの抱合）を首尾よく使用す

ることができる（データ示さず）。

【0103】

エトポシドは、オリゴマーの抱合に使用することができる3つの反応性水酸基を含む（図1）。本発明により、3つ全ての水酸基が誘導される。PEG-オリゴマー/ポリマーを不安定なエステル結合を介してエトポシド分子上の水酸基に結合させる。両親媒性成分（例えば、PEG）の長さを、プロドラッグの所望の両親媒性を得るために変化させることができる。PEG-オリゴマー/ポリマーの付属物は、水溶性を付与するだけでなく、プロドラッグのように挙動し、インビボで迅速に加水分解されて遊離のエトポシドを放出する。

【0104】

5. 1 PEG-オリゴマー/ポリマー-薬物抱合物の合成

5. 1. 1 化合物I ($\text{ClC}(\text{O})\text{CH}_2(\text{OC}_2\text{H}_4)_2\text{OCH}_3$)の合成

化合物Iの合成では、還流冷却器を具備した二口フラスコの漏斗への滴下によって6.2ml (0.085mol)の塩化チオニルを添加した。フラスコを水浴上でゆっくりと加熱し、無水の[2-(2-メトキシエトキシ)-エトキシ]酢酸(10g、0.056mol)を40分かけて添加した。全ての酸を導入した時、反応混合物を水浴場で30分間加熱し、反応混合物を室温で一晩攪拌した。過剰な塩化チオニルを吸引ポンプで除去し、生成物を減圧蒸留した。生成物をIRおよびNMRを使用して特徴づけた。

【0105】

5. 1. 2 両親媒性化合物II ($\text{ClC}(\text{O})\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$)の合成

適切なポリエチレングリコール炭酸出発物質を使用した化合物Iに関して上記第5. 1. 1節に記載のものと同一の一般的工程を使用して、化合物IIを調製した。

【0106】

5. 1. 3 両親媒性化合物III ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2\text{CH}_2\text{CH}_3$)の合成

丸底フラスコ中で、150mlの無水THFにNaH(3.9g、0.613

mol) を分散させた。無水ジ (エチレングリコール) エチルエーテル (20 g、0.149 mol) を THF (50 ml) に溶解し、NaH 懸濁液に滴加した。反応混合物を2時間攪拌した。エチル3-ブロモプロピオネート (17.5 ml、0.140 mol) の THF (20 ml) 溶液を、予め冷却しておいた反応混合物 ($t = -10^{\circ}\text{C}$) に添加した。反応混合物を一晩攪拌し、溶媒を完全に蒸発させた。酢酸エチルを残渣に添加し、混合物を10% NaCl と脱イオン水の溶液で洗浄した。酢酸エチル溶液を MgSO_4 で乾燥し、濾過し、溶媒を蒸発させた。残渣を吸引ポンプで乾燥させた。粗物質にシリカゲルカラムでクロマトグラフ分析を行った。化合物 I II を含む画分を回収し、濃縮し、TLC、HPLC、MS、およびMNRによって特徴づけた。

【0107】

5. 1. 4 化合物IVを得るための化合物I IIの加水分解

化合物 I II を1NのNaOH中で3~4時間攪拌した。反応混合物を濃縮してアルコールを除去し、酸性にした。NaCl 溶液を添加し、これを塩化メチレンで抽出した。有機溶媒を脱イオン水で洗浄し、 MgSO_4 で乾燥し、濾過し、溶媒を蒸発させて化合物IV ($\text{HO}(\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{OC}_2\text{H}_4)_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$) を得た。生成物を、TLC、IR、およびMNRによって特徴づけた。

【0108】

5. 1. 5 両親媒性化合物V ($\text{Cl}(\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{OC}_2\text{H}_4)_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$) の合成

化合物 I II に関して上記第5. 1. 1 節に記載のものと同一の一般的工程を使用して、化合物Vを調製した。

【0109】

5. 1. 6 エトポシドへのPEG-オリゴマー/ポリマーの抱合

丸底3口フラスコ中で、0.250 g (0.4 mmol) のエトポシドを4 ml の無水クロロフォルムに溶解した。溶液を窒素雰囲気下で攪拌し、0.32 g (4 mmol) のピリジンを添加した。反応混合物を氷浴で冷却し、[2-(2-メトキシ-エトキシ)-エトキシ] アセチルクロリドを滴加した。反応混合物を3時間攪拌し、1% H_2SO_4 溶液 (2 x 10 ml) および脱イオン水で洗浄し

、 $MgSO_4$ で乾燥し、濾過し、回転式蒸発器で濃縮した。

【0110】

粗生成物を、移動相としてクロロホルム-メタノール90～10%を使用してシリカゲルカラムでクロマトグラフ分析を行った。生成物を含む画分を回収し、濃縮し、吸引ポンプで乾燥した。

【0111】

エトボシド抱合体合成図式の最初の試験では、所望の化合物I（図1）を単離した。化合物を、 1H NMR、MS、およびHPLC分析によって特徴づけ、所望の生成物であることが示された。エトボシド抱合体の溶解性は、リン酸緩衝液中のエトボシドの7倍であることが見出された。

【0112】

5. 2 水性環境下での抱合体の切断

薬物-オリゴマー抱合体の水溶液中での加水分解の例を図3に示す。精製エトボシド抱合体のリン酸緩衝液溶液サンプルは、pHが上昇するにつれて加水分解速度が増加する。pH5.9では、約10%の抱合体が28時間で加水分解され、pH7.4では同期間で約40%が加水分解された。pH8.0では、20時間で加水分解が本質的に完了する。この変換中に有意な副産物は認められなかった。

【0113】

エトボシド抱合体を37℃の新鮮なラット血漿中でインキュベートした場合、抱合エトボシドの加水分解およびエトボシドの出現は相互作用挙動を示した（図4）。これは、PEG-オリゴマー/ポリマーエトボシド抱合体の加水分解が完了し、遊離のエトボシドが放出したことを示す。上記第1節でより完全に記載されるように遊離のエトボシドは抗癌治療効果を有することが公知であり、出願人によって作製されたプロドラッグが通常の生理学的条件下で活性エトボシドに代謝されるので、本発明のプロドラッグが被験体に活性抗癌薬を送達することができることは、明白である。

【0114】

5. 3 静脈内投与後のCNS中の抱合体の蓄積

エトボシド抱合体を、Sprague Dawleyラットに $9\mu\text{mol/kg}$ で静脈内投与した。種々の測定点での血漿中のエトボシドの測定(図5)により、ピーク血漿エトボシド濃度が60%増加し、エトボシドを投与したラット(曲線II)に対してエトボシド抱合体を投与したラット(曲線I)では約50%半減期が延長されることが示された。

【0115】

脳組織内のエトボシド濃度をこれらのラットで測定した場合、データにより、エトボシド抱合体での注射により脳実質中での遊離のエトボシドの蓄積が3倍増加したことが明らかとなった(図6)。これらのデータは、抱合ペプチドホルモンによって血液脳関門の浸透が増加したことを示す本発明者らが行った他の研究と一致する(データ示さず)。

【0116】

5. 4 エトボシド抱合体がトポイソメラーゼIIを阻害することの確認

薬物分子の共有結合による改変により、その活性が頻繁に変化する。抱合体はインビボで加水分解されて活性な親化合物が得られるので抱合体は親化合物の活性を妨害しないことが厳格に必要ではないが、それでも任意の生物活性の変化を以後の実験由来のデータの解釈の要因として考慮することができるようにエトボシド抱合体の生物活性を評価することは重要である。

【0117】

エトボシド抱合体のトポイソメラーゼII活性の阻害能力を、DNAアンノッティングアッセイ(DNA-unknottting assay: Isabel la, Capranicoら、1990)を使用して評価することができる。このアッセイでは、トポイソメラーゼIIで高分子量に分解し、ファージP4 DNAをより小さなDNAフラグメントに高度に相互損傷した。簡単に述べれば、高度に結ばれたP4 DNAを調製し、上記のトポイソメラーゼIIを含むHeLa細胞由来の高塩核抽出物と共にインキュベートする(De Isabella, Capranicoら、1990; Giaccone, Gazdarら、1992)。濃度を変化させたエトボシド抱合体または天然のエトボシドを反応物に添加することができる。37℃で30分間のインキュベーション後、ドデシル

硫酸ナトリウムおよびプロテアーゼKの添加によって反応を停止させ、ゲル電気泳動によってDNAを分離した。高分子量および低分子量のDNAを臭化エチジウム染色によって視覚化することができる。

【0118】

5. 5 エトポシド抱合体の体内分布および薬物動態学のさらなる定義

本研究の焦点は、活性エトポシドを遊離のエトポシド浸透性が不十分な生理学的関門を通過可能にすることである。最近公表された研究では、P糖タンパク質多剤耐性分子および関連タンパク質はエトポシドの脳実質への浸透の鍵となる関門成分であり得ることが示されている。薬物輸送分子はまた、エトポシドの不安定な腸吸収を担い得る。

【0119】

タンパク質送達用抱合体技術により、抱合分子のこれら両方の関門のより有効な分散が可能である。静脈内投与後の種々の組織（脳実質および脳内に移植された腫瘍組織を含む）に到達するエトポシド抱合体量を測定することができる。次いで、エトポシドの経口投与により上記組織中で治療レベルの遊離エトポシドを得ることもできるかどうかを同定することができる。

【0120】

多数の研究により、エトポシドの広範な暴露によりその細胞死滅能力を改善することができるものと唆される。インビボエトポシドは半減期が比較的短く、反復投与および付随の医学的サポートが必要である。特に有用な抱合体技術の態様は、プロドラッグの加水分解速度を血漿中のエトポシドの半減期を延長するように調整することができることである。これにより、抱合体の維持用量をより容易に滴定し、遊離エトポシドレベルを治療範囲に容易に維持することができる。

【0121】

動物および9L神経腫モデル。成体Fischerラット（5～6週齢）をこれらの研究に使用することができる。実験用神経腫を、インビトロ培養物由来の20,000個の9L膠芽細胞腫細胞（Asai, Shibuiら、1990）の右前頭葉への定位固定注射によってラット中に誘導することができる。14日後、この動物を実験に使用することができる。

【0122】

静脈内投与後の体内分布。Fischerラット（体重約250g）に、5mg/kgの用量でエトポシドまたは同分子量のエトポシド抱合体のリン酸緩衝化生理食塩水を投与し、尾静脈を介して注射することができる。ラットは4時間と24時間で飼料採取することができる。各治療群由来の6つのラット群を過剰用量のペントバルビタールで安楽死させて、血漿および組織を採取することができる。

【0123】

血液サンプルを心穿刺によってヘパリン処理シリンジに採取することができる。血液サンプルを遠心分離し、血漿を分析まで-20℃で保存することができる。組織（心臓、肺、脳、腎臓、肝臓、骨格筋、および腫瘍）を、迅速に解剖し、冷リン酸緩衝化生理食塩水でリンスし、更なる処理まで液体窒素中で簡単に凍結することができる。

【0124】

経口投与後の体内分布。薬物を20gの胃管ニードルを使用して経口栄養法によって投与することができる以外は、経口投与に類似の実験デザインに従った。エトポシドを5mg/mLの生理食塩水で100μLの投与体積に希釈することができ、抱合物を希釈して100μL中に類似の投与分子量を得ることができる。組織を同一の測定点で採取し、同一の方法で処理することができる。

【0125】

経口投与および静脈内投与後の薬物動態学。2つの用量レベル（1mg/kgおよび5mg/kg）を試験することができる以外は、成体分布研究について記載のように、腫瘍を有するFischerラットに、エトポシドまたは同分子量のエトポシド抱合物を投与することができる。6匹のラットの群から、5、10、15、30、および60分ならびに2時間、4時間、および24時間で試料採取することができる。ラットを過剰用量のフェノバルビタールで安楽死させて、血液サンプルを心穿刺によってヘパリン処理シリンジに採取することができる。血漿中の細胞を、短時間の遠心分離によってペレット化し、血漿を-20℃で保存することができる。

【0126】

血漿および組織中のエトボシドの分析。血漿および組織のエトボシド濃度を、HPLCで測定することができる(Eiseman, Eddingtonら、1994)。血漿サンプルをアセトニトリルと1:2で混合することができる。次いで、サンプルを、同体積の0.02M酢酸アントリウム(pH4)の添加によって酸性化して、サンプル中のエトボシド抱合物の加水分解を防止することができる。組織を解凍し、すぐに2体積の生理食塩水中でホモジナイズすることができる。1体積のホモジネートを2体積のアセトニトリルと混合し、上記のように同体積の酢酸ナトリウムの添加によって酸性化することができる。全サンプル中の細胞破片を、短時間の遠心分離によって除去することができる。

【0127】

データ分析。各サンプル中のエトボシド濃度を、エトボシドピーク下での領域と内部コントロールの領域との比の計算によって同定することができる。濃度(mg/ml)を、以前に作成した内部コントロールについての検量線との比較によって同定することができる。データは平均[エトボシド+—SE]としてまとめることができる。

【0128】

薬物動態学。薬物濃度—血漿プロフィールを、R-ストリップソフトウェアを使用して分析することができる。血漿濃度—時間曲線の下を計算し、無限大を推定することができる。経口投与後の生物学的利用能を、式 $\% = (AUC_{oral} / AUC_{i.v.}) \times 100$ を使用して計算することができる。総身体クリアランスを、式 $CL_{tb} = \text{用量} / AUC$ を使用して計算し、分布体積を式 $V_d = CL_{tb} / K_{el}$ から計算することができる。分布半減期および排泄半減期を、血漿—時間濃度曲線の一次および二次対数直線部分からの推定によって同定することができる。

【0129】

5. 6 エトボシド抱合体の有効性の確認

PEG-オリゴマー/ポリマーのエトボシドの抱合により、非経口投与および潜在的には経口投与でのCNS腫瘍の治療が可能であると予想される。エトボシ

ド抱合体を、脳内9L腫瘍を有するラットの平均余命を延長する能力について試験することができる。

【0130】

腫瘍モデル。アメリカンタイプカルチャーコレクションが推奨するように、培地中で9L細胞株を維持することができる。上記のように、Fischerラットの右前頭葉への細胞の定位的接種によって腫瘍を誘導することができる。ラットを脳内接種から14日後で使うことができる。治療前に、ラットをプールし、無作為に治療群に分けた。

【0131】

治療計画。治療計画には、毒性実験で同定した最も高い非致死量のエトポシドまたはエトポシド抱合体を使用することができる。10匹のラットの群を各化合物で治療し、10匹を未治療コントロールとして使うことができる。治療第1日目にラットを計量し、その後1日おきに計量することができる。

【0132】

ラットを1、3、5、7日目に治療することができる。膠芽細胞腫用の薬物用量を経口および静脈内に投与することができる。クラウチング、無気力、および麻痺を含む神経学的徴候は、膠芽細胞腫のラットの終点であり得る。毎日、神経学的徴候についてラットを観察することができる。観察中に死亡した場合、これを終点として使うことができる。

【0133】

水/アセトニトリル移動相を使用する230nmのU. V. 検出器を具備したC-18カラムでのWaters Alliance 2690でサンプルを分析することができる。HPLC軌跡の曲線下の領域と検量線との比較によって、分析物の濃度を同定することができる。組織および血漿サンプルを、抽出効率を校正するための内部コントロールとしての25g/mLのセファロマンニンでスパイクすることができる。

【0134】

5. 7 抱合エトポシドの光学用量の同定

動物モデル中の抱合エトポシドの光学用量を同定することができる。複数の腫

瘍サンプル（CNS腫瘍および非CNS腫瘍）を使用して広範な前臨床効率試験を行うことができる。

【0135】

5. 8 結論

上記の実験によりエトポシドを投与したコントロールと比較して、エトポシド抱合物を投与した動物の脳実質内の遊離または抱合エトポシド濃度の増加が確認されたと予想される。本研究により非治療コントロールと比較して抱合体を投与した腫瘍を有する動物の生存度に対して統計学的に有意な効果が確認されたとさらに予想される。さらに、エトポシドを投与した動物と比較して、抱合体を投与した動物において経口における生物学的利用能が有意に増加する。

【図面の簡単な説明】

【図1】

本発明のオリゴマーの結合部位として使用することができる反応性水酸基を示すエトポシドの構造を示す図である。

【図2】

本発明の操作の基本的模式図である。PEG-オリゴマー/ポリマーを、不安定なエステル結合を介してエトポシドの水酸基に結合する。血流中では、加水分解性結合は切断されて、活性親化合物が遊離する。

【図3】

水性環境下での抱合体の切断を示す図である。精製エトポシド抱合体のリン酸緩衝液サンプルは、pHが上昇するにつれて加水分解速度が上昇することを示す。pH 5.9では、約10%の抱合体が28時間で加水分解され、pH 7.4では同期間で約40%が加水分解された。pH 8.0では、20時間で加水分解が本質的に完了する。この変換中に有意な副産物は認められなかった。

【図4】

エトポシド抱合体を37℃の新鮮なラット血漿中でインキュベートした場合、抱合エトポシドの加水分解および遊離のエトポシドの出現が相反的に認められ、これは、PEG-オリゴマーエトポシド抱合体の加水分解が完了して、遊離の活性エトポシドが放出されたことを示している。

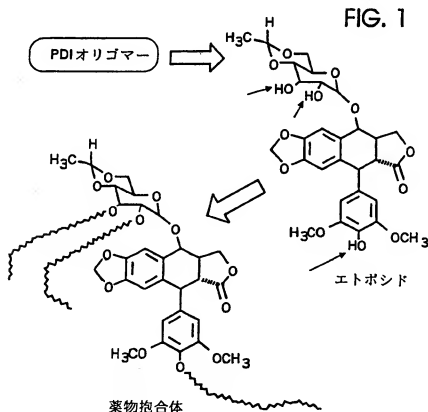
【図5】

エトポシドを投与されたラットに対するエトポシド抱合体を投与されたラットのインビボプロフィールを示すグラフである。エトポシドの抱合体を、Sprague Dawleyラットに $9\mu\text{mol/kg}$ で投与した。種々の測定点での血漿中のエトポシドの測定により、ピーク血漿エトポシド濃度が60%増加し、エトポシドを投与したラット（曲線II）に対してエトポシド抱合体を投与したラット（曲線I）では約50%半減期が延長されることが示された。

【図6】

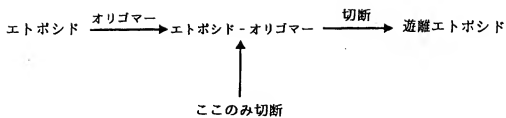
脳組織内のエトポシド濃度をこれらのラットで測定した場合、データにより、エトポシド抱合体での注射により脳実質中での遊離のエトポシドの蓄積が3倍増加したことが明らかとなり、これは、抱合ペプチドホルモンによって血液脳関門の浸透が増加したことを示す。

【図1】



【図2】

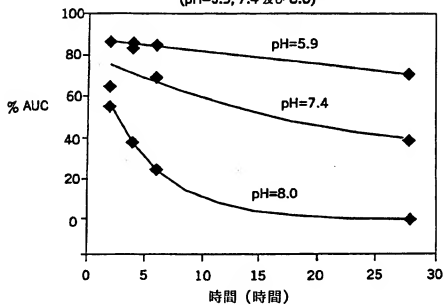
FIG. 2



【図3】

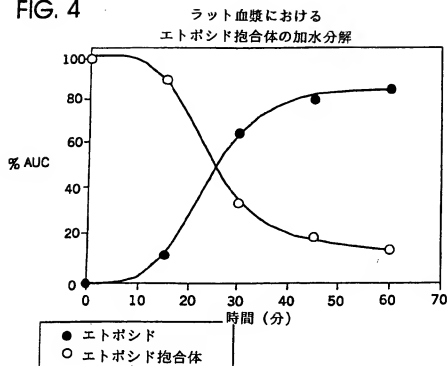
FIG. 3

エトボシド抱合体の加水分解速度
(pH=5.9, 7.4 及び 8.0)



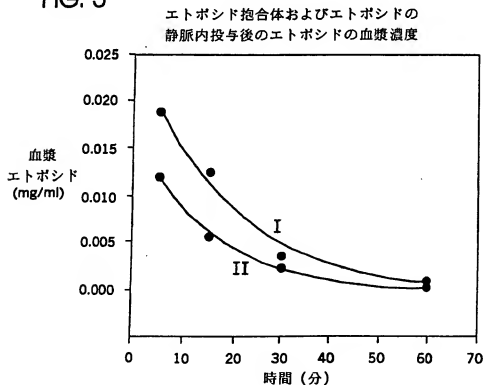
【図4】

FIG. 4

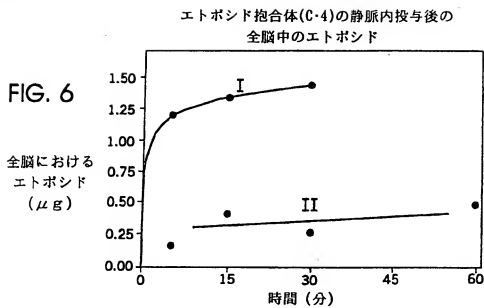


【図5】

FIG. 5



【図6】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

National Application No
rCT/US 00/24520

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 A61K47/48		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search limits used) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, EMBASE, CHEM ABS Data, BIOSIS, MEDLINE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GREENWALD R.B. ET AL: "Drug delivery of anticancer agents: Water soluble 4-poly (ethylene glycol) derivatives of the ligand, podophyllotoxin," JOURNAL OF CONTROLLED RELEASE, (1999) 61/3 (281-294). XP001014151 abstract; figures 1-3 see conclusion page 285, column 2	I-101
X	WO 99 30727 A (GREENWALD RICHARD B : ENZON INC (US); CHOE YUN H (US); FENDRI ANNAP) 24 June 1999 (1999-05-24) page 28 -- -- --	I-101
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" documents which may (draw claims on priority claims) or which it cited to establish the publication date of another claim or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to demonstrate the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 25 July 2001		Date of mailing of the international search report 31/07/2001
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5418 Patentbus 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-3040, Tx. 31 651 aye nl Fax: (+31-70) 340-3010		Authorized officer Gonzalez Ramon, N

Form PCT/ISA/C10 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

national Application No
PCT/US 00/24520

C. (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 97 33552 A (LI CHUN ; WALLACE SIDNEY (US); YU DONG FANG (US); WALLACE TECH INC) 18 September 1997 (1997-09-18) claim 1; example 3	1-101
X	WO 98 07713 A (ENZON INC) 26 February 1998 (1998-02-26) page 18; figure 10; example 31	1-101
X	WO 96 23794 A (ENZON INC) 8 August 1996 (1996-08-08) claim 18; figures 6,7; examples 11,17	1-101
E	WO 00 64486 A (VERITAS MEDICAL TECHNOLOGIES I) 2 November 2000 (2000-11-02) page 18, line 19-22; claims 51,52 page 19, line 5-15 page 39-42	1-101
E	WO 01 19407 A (EKWURIBE NNOCHIRI N ; PRICE CHRISTOPHER H (US); BARTLEY GARY S (US)) 22 March 2001 (2001-03-22) the whole document	1-101

Form PCT/ISearch (publication of second sheet) (July 1992)

page 2 of 2

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 1-101

Present claims relate to a rather large number of possible compounds/methods. Support within the meaning of Article 6 PCT and/or disclosure within the meaning of Article 5 PCT is to be found, however, for only a very small proportion of the compounds/methods claimed. In the present case, the claims so lack support, and the application so lacks disclosure, that a meaningful complete search over the whole of the claimed scope is impossible.

Moreover present claims relate to compounds defined by reference to desirable characteristics or properties, namely "therapeutic compound", "hydrolyzable bond", "salt-forming moiety". The claims cover all compounds having these characteristics or properties, whereas the application provides support within the meaning of Article 6 PCT and/or disclosure within the meaning of Article 5 PCT for only a very limited number of such compounds. In the present case, the claims so lack support, and the application so lacks disclosure, that a meaningful search over the whole of the claimed scope is impossible. Independent of the above reasoning, the claims also lack clarity (Article 6 PCT). An attempt is made to define the compounds by reference to a result to be achieved. Again, this lack of clarity in the present case is such as to render a meaningful search over the whole of the claimed scope impossible. Consequently, the search has been carried out for those parts of the claims which appear to be clear, supported and disclosed, namely those parts relating to the compounds/methods specifically mentioned in the examples, especially prodrugs of etoposide and those defined in claims 7,8,15 with due regard to the general idea underlying the present application.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

National Application No.

PCT/US 00/24520

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9930727 A	24-06-1999	US 6180095 B AU 1825299 A EP 1037649 A	30-01-2001 05-07-1999 27-09-2000
WO 9733552 A	18-09-1997	AU 2580697 A BR 9710646 A CA 2250295 A CN 1217662 A CZ 9802908 A EP 0932399 A HU 9903952 A JP 2000507930 T NO 984210 A PL 328807 A US 6262107 B US 5977163 A	01-10-1997 11-01-2000 18-09-1997 26-05-1999 14-07-1999 04-08-1999 28-05-2001 27-06-2000 11-11-1998 15-02-1999 17-07-2001 02-11-1999
WO 9807713 A	26-02-1998	US 5840900 A AU 730244 B AU 4079497 A EP 0923566 A JP 2000517304 T US 6127355 A US 5965566 A	24-11-1998 01-03-2001 06-03-1998 23-06-1999 26-12-2000 03-10-2000 12-10-1999
WO 9623794 A	08-08-1996	US 5614549 A US 5880131 A AU 705147 B AU 4913396 A CA 2208841 A EP 0807115 A JP 10513187 T US 6127355 A US 5840900 A US 5965566 A	25-03-1997 09-03-1999 13-05-1999 21-08-1996 08-08-1996 19-11-1997 15-12-1998 03-10-2000 24-11-1998 12-10-1999
WO 0064486 A	02-11-2000	AU 4683500 A	10-11-2000
WO 0119407 A	22-03-2001	AU 6951200 A	17-04-2001

Form PCT/ISA/10 (patent family annex) (July 2002)

フロントページの続き

(51) Int. Cl. ⁷	識別記号	F I	テマコード (参考)
A 61 K 9/20		A 61 K 9/20	
	9/48		9/48
	31/7048		31/7048
A 61 P 35/00		A 61 P 35/00	
	35/02		35/02
	43/00		43/00
	1 2 3		1 2 3
(B1) 指定国 EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW			
(72) 発明者	ブライス, クリストファー・エイチ アメリカ合衆国ノースカロライナ州27516, チャペル・ヒル, コモンズ・ウェイ 200		
Fターム (参考)	4B018 LB01 LE01 MD07 ME08 MF08 4C076 AA11 AA16 AA29 AA36 AA53 AA96 BB01 BB13 BB15 BB16 BB21 BB25 BB40 CC27 CC42 EE23 EE25 FF34 4C086 AA01 EA11 MA01 MA04 MA17 MA21 MA34 MA35 MA37 MA43 MA52 MA55 MA56 MA63 MA65 MA66 NA11 NA15 ZB26 ZB27		